

Departement für Pferde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Untersuchung der Wirkung von QuickSana® auf die Wundheilung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Francis Katharina Pusch

Tierärztin
aus Münster, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin
Prof. em. Dr. med. vet. Hans Geyer, Korreferent

Zürich 2012

Meinen Eltern
Elke und Holger Pusch
&
meinem Bruder
Max

Zusammenfassung	1
Summary	2
1 Einleitung	3
1.1 Hintergrund der Studie	3
1.2 Ziel der Studie	4
2 Literaturübersicht	5
2.1 Wundheilung und Wundbehandlung	5
2.1.1 Geschichtlicher Hintergrund	5
2.1.2 Einteilung der Wundheilung	5
2.1.3 Phasen der Wundheilung	6
2.1.4 Behandlung von Wunden nach aktuellem Wissensstand	7
2.2 Transforming Growth Factor beta3 (TGF- β 3)	9
2.2.1 TGF- β 3 und die Wundheilung	9
2.2.2 TGF- β 3 und Narbengewebe	9
2.3 Hopfen und Wermut	10
2.4 Problemstellung Narbengewebe	12
3 Material und Methoden	13
3.1 QuickSana [®]	13
3.2 <i>In vitro</i> Studie	13
3.2.1 Aufbau und Hintergrund	13
3.2.2 Kultivierung der Zellen und Bestimmung der FCS Konzentration	14
3.2.3 MTT Viabilitätstest	14
3.2.4 Zytotoxizitätstest von QuickSana [®] 1, QuickSana [®] 2 und Alkohol als Kontrolle	15
3.3 <i>In vivo</i> Studie	16
3.3.1 Versuchstiere	16
3.3.2 Aufbau der Studie	16
3.3.3 Operation	18
3.3.4 Postoperatives Management	19
3.3.5 Probengewinnung und -aufbereitung	20
3.3.6 Untersuchungsmethoden und Probenauswertung	23

3.3.6.1	Makroskopische Auswertung.....	23
3.3.6.2	Histologische Auswertung.....	25
3.3.6.3	Immunhistologische Auswertung	27
3.3.7	Statistik	29
<hr/>		
4	Resultate.....	30
4.1	<i>In vitro</i> Studie	30
4.1.1	Kultivierung der Zellen und Bestimmung der FCS Konzentration	30
4.1.2	Zytotoxizitätstest von QuickSana [®] 1, QuickSana [®] 2 und Alkohol als Kontrolle.....	31
4.2	<i>In vivo</i> Studie	33
4.2.1	Operation.....	33
4.2.2	Postoperative Phase	33
4.2.3	Makroskopische Auswertung.....	34
4.2.3.1	Wundheilungsverlauf.....	34
4.2.3.2	Größenbestimmung.....	35
4.2.3.3	Beurteilung der Narben.....	36
4.2.3.4	Histologische Auswertung.....	37
4.2.3.5	3-Tage-Gruppe.....	38
4.2.3.6	7-Tage-Gruppe.....	39
4.2.3.7	28-Tage-Gruppe.....	41
4.2.4	Immunhistologische Auswertung	43
4.2.4.1	3-Tage-Gruppe.....	43
4.2.4.2	7-Tage-Gruppe.....	43
4.2.4.3	28-Tage-Gruppe.....	45
<hr/>		
5	Diskussion.....	46
5.1	<i>In vitro</i> Studie	46
5.2	<i>In vivo</i> Studie	48
5.2.1	Diskussion der Methoden	48
5.2.1.1	Modell der Hautwunden	48
5.2.1.2	Die Ratte als Tiermodell	48
5.2.1.3	Operation und postoperative Phase.....	49
5.2.1.4	Untersuchungszeitraum und Behandlungsgruppen.....	50
5.2.1.5	Untersuchungsmethoden und Probenauswertung	51

5.2.2	Diskussion der Ergebnisse.....	53
5.2.3	Schlussfolgerung und Perspektiven.....	56
<hr/>		
6	Literaturverzeichnis.....	57
7	Abkürzungsverzeichnis	62
8	Anhang	63
8.1	Abbildungen	63
8.1.1	<i>In vitro</i> Studie.....	63
8.1.2	<i>In vivo</i> Studie.....	66
8.2	Graphiken	71
8.2.1	<i>In vitro</i> Studie.....	71
8.2.2	<i>In vivo</i> Studie.....	72
8.3	Tabellen	79
8.3.1	<i>In vitro</i> Studie.....	79
8.3.2	<i>In vivo</i> Studie.....	81
<hr/>		
9	Danksagung.....	121

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Wirkung des phytotherapeutischen Mittels QuickSana® auf die Wundheilung untersucht. Nach Ausschluss einer toxischen Wirkung auf Bindegewebszellen *in vitro*, wurde eine *in vivo* Studie an Ratten durchgeführt, denen standardisierte Hautwunden auf dem Rücken gesetzt wurden. Die Behandlungsdauer betrug 3, 7 oder 28 Tage. Die Wirkung von QuickSana® wurde bei der drei- und der 28-Tage-Gruppe mit Betadine- und Chlorhexidinlösung als Positivkontrollen verglichen. Als Negativkontrollen dienten bei allen Gruppen unbehandelte Wunden. Der Heilungsverlauf wurde täglich protokolliert und fotografisch festgehalten. Am Ende der Behandlungen erfolgten makroskopische, histologische und immunhistologische Untersuchungen.

Es konnte gezeigt werden, dass QuickSana® wundheilungsfördernde sowie narbenverringende Wirkungen aufweist. Im Vergleich zu den Positiv- und Negativkontrollen zeigten mit QuickSana® behandelte Wunden nach allen Behandlungszeiträumen eine höhere Expression des transformierenden Wachstumsfaktors $\beta 3$. Zudem wiesen mit QuickSana® behandelte Wunden nach sieben Tagen, bei gleichzeitig geringerer Kontraktion der Wundränder, eine grössere Fläche neu gebildetes Epithel auf als die Negativkontrollen. Nach 28 Tagen konnte weiterhin nach Behandlung mit QuickSana® eine geringere Narbenbildung als bei den Positiv- und Negativkontrollen verzeichnet werden.

Als rein pflanzliches Produkt stellt QuickSana® somit ein geeignetes Mittel zur Wundversorgung dar.

Summary

In the present study, the effects of the phytotherapeutical agent QuickSana[®] were investigated in a wound-healing model in rats. Prior to the animal experiments, the substances were tested *in vitro* on fibroblast cell cultures to exclude potential cytotoxic effects. In the *in vivo* part, standardized wounds were created on the back of the animals and investigated for three, seven and 28 days. In the groups treated for three and 28 days, application of QuickSana[®] was compared to Betadine and Chlorhexidin solutions as positive controls. Untreated wounds served as negative controls at all follow-up times. The healing process was documented on a daily basis. At the end of the different treatment periods, macroscopical, histological and immunohistological analyses were performed.

It was shown that QuickSana[®] improved wound healing and reduced scar tissue formation. In comparison to the positive and negative controls, all wounds treated with QuickSana[®] showed a higher expression of transforming growth factor beta3 (TGF- β 3) at all follow-up times. After seven days, wounds were less contracted and a higher amount of new epithelium was produced in comparison to the negative control. After 28 days, treatment with QuickSana[®] resulted in less scar tissue formation.

In summary, the herbal product QuickSana[®] proved to be an appropriate treatment modality for wound healing care.

1 Einleitung

1.1 Hintergrund der Studie

„Heilung ist eine Sache der Zeit, aber manchmal auch eine Sache der sich bietenden Möglichkeiten“ (Hippokrates).

Die Möglichkeiten zur Förderung der Wundheilung sind heute vielfältiger denn je. Es scheint, als ob mit der Häufigkeit von Wunden auch die Behandlungsmethoden variieren würden. Bislang hat sich allerdings noch kein Goldstandard zur Wundbehandlung durchsetzen können. Wundheilungsfördernde Produkte bleiben somit stets Gegenstand der Forschung.

Neben der Beschleunigung der Heilung liegt das zweite wichtige Ziel in einer Vermeidung von Narbenbildung. An Stellen, die einer hohen mechanischen Beanspruchung ausgesetzt und nur von einer dünnen Haut bedeckt sind, wie es zum Beispiel bei Gelenken der Fall ist, kann Narbengewebe die Mechanik stark beeinträchtigen. Auch sind Narben aus kosmetischer Sicht unerwünscht.

Für pflanzliche Arzneimittel gilt, dass sie sich immer grösserer Beliebtheit erfreuen. Eine Langzeitstudie des Instituts für Demoskopie in Allensbach aus dem Jahr 2010 zeigt, dass bis dato schon mehr als 70% der Bundesbürger Arzneimittel aus dem Naturheilmittelbereich benutzen. Die Tendenz ist steigend.

Das in dieser Studie untersuchte Produkt QuickSana[®] wurde bereits in verschiedenen klinischen Fällen an Pferd und Hund erfolgreich eingesetzt, wobei eine wundheilungsfördernde Wirkung mit einhergehender verringerter Narbenbildung beobachtet werden konnte. Eine wissenschaftliche Untersuchung der Effekte und Prüfung der Wirksamkeit mittels standardisierter Versuche fehlten aber bislang.

1.2 Ziel der Studie

Zielsetzung dieser Arbeit war es, das Produkt QuickSana[®] hinsichtlich seiner Wirkung auf die Wundheilung zu untersuchen. In einem *in vitro* Vorversuch sollten zunächst zytotoxische Effekte der Substanzen auf Bindegewebszellen (Fibroblasten) ausgeschlossen werden. Dann galt es zu untersuchen, ob und welche Effekte QuickSana[®] im Verlauf der Wundheilung und bei der Narbenbildung zeigte. Dafür wurden definierte Wunden auf dem Rücken von Ratten gesetzt und über die Zeiträume von drei, sieben und 28 Tagen behandelt. Die in der klinischen Therapie von Wunden standardmässig eingesetzten Mittel Betadine und Chlorhexidin dienten hierbei als Vergleich. Als Negativkontrolle dienten unbehandelte Wunden. Mit den durchgeführten makroskopischen und histologischen Untersuchungen sollten Aussagen über neu gewachsenes Bindegewebe, Reepithelisierung, Wundschluss, Entzündung und Narbenbildung getroffen werden. Durch immunhistologische Untersuchungen wurden die Konzentration des transformierenden Wachstumsfaktors beta3 (TGF- β 3) sowie die Menge an neu gebildeten Gefässen ermittelt.

2 Literaturübersicht

2.1 Wundheilung und Wundbehandlung

2.1.1 Geschichtlicher Hintergrund

Die Behandlung von Wunden kann in der Geschichte der Menschheit schon sehr früh nachgewiesen werden ³⁷. Auf Wandmalereien aus der Steinzeit sind einfache Verbände nach Verwundungen bei der Jagd zu sehen ⁴⁷. Während im alten Ägypten auf Wunden noch ein frisches Stück Fleisch gelegt wurde ⁴, spülte Hippokrates schon mit Wein und Regenwasser, legte in Essig oder Wein getränkte Verbände an und trug Salben aus einem Gemisch aus Metallverbindungen, Honig und Galläpfeln auf ³². Von dem ersten Gebrauch von Alkohol im Mittelalter ⁶⁰ über die beginnende Anwendung von antibiotischen Präparaten im 19. und 20. Jahrhundert, entwickeln sich die Behandlungsmöglichkeiten parallel zu den wissenschaftlichen Erkenntnissen über die Abläufe der Wundheilung stetig weiter. Das derzeitige Fortschreiten in der Entwicklung von Hydrogelen und Hydrokolloiden als Wundauflagen sowie der Aufschwung der Anwendung von Zytokinen zeigen, dass die Tür für neue heilungsfördernde Mittel weiterhin offen steht.

2.1.2 Einteilung der Wundheilung

Unmittelbar nach der Entstehung der Wunde wird ihre Heilung aktiviert ²⁵. Ziel des Organismus ist es dabei, die Wunde zu verschliessen und das beschädigte Gewebe wieder herzustellen oder zu ersetzen ³⁸. Man unterscheidet drei verschiedene Abläufe der Wundheilung: Primärheilung, Sekundärheilung und verzögerte Primärheilung ^{7,57}. Primärheilung kann stattfinden, wenn die Wundränder eng aneinander liegen, so dass sie verkleben und verwachsen ³⁸. Dabei wandern noch vorhandene Zellen aus der Lederhaut, den basalen Epidermisschichten und aus Hautanhangsgebilden in das Wundgebiet ein, wachsen und vermehren sich ⁵⁷. Vor allem chirurgisch versorgte Wunden unterliegen der Primärheilung ^{7,57}. Der Verschluss einer Wunde wird angestrebt, da hierdurch sowohl Infektionsrisiko und Narbenbildung verringert, als auch die Heilungszeit verkürzt wird. Ebenso ist ein schneller Wiedereintritt der Funktionalität des Gewebes zu erwarten ⁵⁷. Bei Wunden mit grossem Gewebedefekt, bei denen aufgrund einer Kontamination oder der Grösse keine Primärheilung erreicht werden kann, kommt es zu sekundärer Heilung. Dabei füllt sich in verschiedenen aufeinanderfolgenden Phasen der Defekt zuerst auf, dann wird neues Epithel gebildet und zum Schluss das neue Gewebe in Umbau- und Reifungsprozessen modelliert. Diese Vorgänge verlängern die Heilungszeit deutlich ⁷.

Verzögerte Primärheilung ist eine Kombination aus anfänglicher Sekundärheilung mit folgender Primärheilung. Liegt beispielsweise eine bakterielle Kontamination der Verletzung vor, so muss mit dem Verschluss der Wunde einige Tage gewartet werden, um ein Fortschreiten der Infektion zu verhindern. Der Verschluss sollte aber innerhalb von vier Tagen erfolgen, da in dieser Zeit die Auffüllung des Defekts im Rahmen der Sekundärheilung noch nicht stattgefunden hat.

2.1.3 Phasen der Wundheilung

Der Ablauf der Wundheilung lässt sich grob in drei ineinander übergreifende Phasen einteilen: Die Exsudations-Entzündungsphase, die Granulations-Proliferationsphase und die Remodellierungs-Reifungsphase (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 19). Diesen Phasen ist der Prozess der Blutgerinnung vorgeschaltet. Dabei werden aus den verletzten Gefässwänden Thrombozyten freigesetzt und aktiviert. Diese aggregieren, geben Fibrinogen frei und bilden mit dessen Umwandlungsprodukt Fibrin einen Pfropf. Dieser Pfropf stoppt die Blutung und dient als Gerüst für die Einwanderung von Leukozyten, Keratinozyten, Fibroblasten und Endothelzellen^{7,25,38,57}.

Exsudationsphase

Das Einwandern der Leukozyten während der Blutgerinnung wird bereits der Exsudationsphase zugeordnet. Zum grössten Teil sind es neutrophile Granulozyten aber auch Monozyten, die als erste durch die während des Blutgerinnungsprozesses freigesetzten, chemotaktischen Faktoren angelockt werden. Die neutrophilen Granulozyten beginnen, Bakterien und geschädigte Proteine zu phagozytieren. Die Monozyten werden in Makrophagen umgewandelt und fahren mit der Phagozytose von pathogenen Organismen, zurückgebliebenen Zelltrümmern sowie später auch funktionslosen neutrophilen Granulozyten fort. Makrophagen sorgen zudem für die Anlockung von Fibroblasten in das Wundgebiet, setzen Gefäss-bildende Faktoren frei und stellen Wachstumsfaktoren wie TGF- β her, die zusätzlich die Migration von Fibroblasten und Keratinozyten vorantreiben^{7,25,38,57}.

Proliferationsphase

Die Einwanderung von Fibroblasten zeigt den Übergang in die Proliferationsphase an. Bindegewebsbildung, Gefässneubildung und Epithelisierung finden statt. Die Fibroblasten synthetisieren Kollagen, welches zunächst ungeordnet ist, dann aber durch Zugbelastung auf die Wunde zunehmend parallel ausgerichtet wird und die Wunde stabilisiert. Spezielle Fibroblasten, die Myofibroblasten, enthalten das kontraktile Protein Aktin und führen zur

Wundkontraktion. Den Fibroblasten folgend, wandern auch kapillare Sprossen mit in das Wundgebiet ein. Sie schliessen sich untereinander oder mit verletzten Blutgefässen zusammen und bilden neue Gefässe. Durch die damit verbundene Sauerstoffversorgung im Gewebe werden die Proliferationsvorgänge vorangetrieben. Die neuen Gefässkapillaren und die bindegewebsbildenden Fibroblasten stellen das Granulationsgewebe dar, welches den Defekt auffüllt und eine Oberfläche für die Reepithelisierung schafft. Epithelzellen von den Wundrändern werden mobilisiert, proliferieren und migrieren von den Seiten aus über die geschaffene Fläche, bis sie sich berühren. Damit ist der Defekt mit neuem Epithel bedeckt. Durch weitere Proliferation nachfolgender Epithelzellen gewinnt dieses Epithel noch an Dicke und Stabilität.

Reifungsphase

Die anschliessende Phase der Reifung ist geprägt durch Abbau, Aufbau, Umbau und Reifung der Kollagenfasern. Die vorher ungeordneten Fasern richten sich entlang der Zug- und Dehnungslinien der Wunde aus und werden zunehmend durch einen stabileren, weniger durchbluteten Kollagenfasertyp ersetzt. Die Schweissstellen der durch eingewebtes, neues Kollagen vernetzten Fasern stellen immer eine Schwachstelle dar. Richtige Querverbindungen wie beim ursprünglichen Kollagen fehlen. Die Stabilität erreicht somit nicht mehr als 80% der ursprünglichen Reissfestigkeit. Entstanden ist Narbengewebe. Diese Umbauvorgänge können bis zu zwei Jahre dauern ^{7,25,38,57}.

2.1.4 Behandlung von Wunden nach aktuellem Wissensstand

Für die Versorgung von Wunden stehen derzeit diverse Spüllösungen, Wundauflagen, Sprays und Salben zur Verfügung. Alle sind dafür gedacht, die Mechanismen der Wundheilung zu unterstützen. Als Grundprinzip gilt, dass eine Wunde so schnell wie möglich nach der Verletzung behandelt werden sollte. Nach sorgfältiger Untersuchung folgt die Reinigung der Wunde durch Spülen und anschliessend die Wahl der Behandlung. Im Idealfall wird eine chirurgische Wunde geschaffen, die verschlossen wird und primär heilen kann. Alternativ wird die Wunde in der Sekundärheilung unterstützt. Bei der Wahl eines geeigneten Präparates ist die Phase der Heilung zu berücksichtigen, in der sich die Wunde gerade befindet, da jede dieser Phasen eine individuelle Unterstützung benötigt ⁷.

Für die anfängliche Phase der Entzündung ist eine Wundspülung mit keimreduzierender und säubernder Wirkung aber minimaler Zelltoxizität geeignet. Das heisst, sie soll nekrotisches Material und Fremdmaterial entfernen sowie den Befall mit Bakterien reduzieren, dabei aber keinen negativen Einfluss auf die für den Heilungsprozess

wichtigen, zellulären Aktivitäten nehmen ⁵⁷. Das Spülen mit steriler Kochsalzlösung unter minimalem Druck scheint ideal ⁷. Für eine zusätzliche, desinfizierende Wirkung stehen neben Wasserstoffperoxid und Essigsäure unter anderem Povidon-Iod und Chlorhexidin zur Verfügung.

Povidon-Iod

Povidon-Iod ist eine Lösung aus freiem Iod und Polyvinylpyrrolidon. Die aktive Substanz ist freies Iod ⁷. Verwendet werden verdünnte Lösungen von 0.1 bis 1% wie zum Beispiel standardisierte Betadine Lösung (1%ig). Höher konzentrierte Lösungen können Nekrosen verursachen ⁷. Der Vorteil von Povidon-Iod ist ein grosser antimikrobieller Wirkungsbereich ohne bekannte Resistenzen von Bakterien gegenüber Iod. Als nachteilig zu betrachten ist, dass Povidon-Iod durch Blut inaktiviert wird. Des Weiteren, dass die Wirkung zwar rasch eintritt, aber nur vier bis sechs Stunden anhält. Peter et al. zeigte, dass die auf Basis von Povidon-Iod hergestellte Betadine-Salbe durch eine Verringerung des Durchmessers und der Durchblutung von Arteriolen die arterielle und venöse Mikrozirkulation herabsetzt ⁴².

Chlorhexidin

Eine Chlorhexidin-Spüllösung ist Chlorhexidin gelöst in Wasser. Der Vorteil des Antiseptikums Chlorhexidin ist ein weites antimikrobielles Wirkungsspektrum. Aufgrund der Fähigkeit, sich an Zellen zu binden, weist Chlorhexidin zudem eine bedeutende antibakterielle Residualaktivität auf und bleibt in Gegenwart von Blut und Eiter aktiv. Nachteilig ist die mangelnde Wirkung gegen Pilzinfektionen. Ausserdem sind Pseudomonaden und Proteuskeime gegenüber Chlorhexidin resistent. Eine 0.05 prozentige Lösung eignet sich am besten zur Wundspülung, bei höheren Konzentrationen beobachteten Saatman et al. eine Verzögerung im akuten Heilungsverlauf ⁴⁸.

Wundauflagen

Sehr häufig werden zur Wundversorgung auch diverse Wundauflagen verwendet. Das Prinzip des feuchten Wundheilungsmilieus spielt dabei eine grosse Rolle. Es hat sich gezeigt, dass ein feuchtes Milieu die Migration von Epithelzellen fördert, den Selbstreinigungsprozess unterstützt und somit die Wundheilung beschleunigt ^{7,57}. Es gibt allerdings keine Wundauflage, die für alle Wunden und für alle Phasen der Heilung ein optimales Milieu schafft ⁶¹. Auch hier muss die Wahl individuell an den Wundheilungsablauf angepasst werden. Trockene anheftende Wundauflagen wie Gaze eignen sich für die frühen Heilungsstadien zur Entfernung von nekrotischem Gewebe und

Fremdmaterial ⁷. Vor allem aber auch feuchte Wundauflagen wie Hydrogele und Hydrokolloide fördern den Selbstreinigungsprozess und können darüber hinaus auch zur Unterstützung der Zellproliferation in der Proliferationsphase eingesetzt werden. Hydrogele können mit Arzneimitteln augmentiert werden. Diese können anschliessend aus dem Gel kontrolliert in die Wunde abgegeben werden. Auch Polymerschäumverbände unterstützen als teildurchlässige Wundauflagen insbesondere die Proliferationsphase. Sie schützen vor eindringender Nässe und Bakterien und erlauben zeitgleich den Austausch von Luft und Wasserdampf ⁵⁸.

2.2 Transforming Growth Factor beta3 (TGF-β3)

Die Transforming Growth Factor beta (TGF-β) Familie gehört zu einer komplexen Gruppe von Zytokinen, deren Name von der irrtümlichen Annahme stammt, dass diese Wachstumsfaktoren normale Zellen in bösartige umwandeln ^{27,56}. Dabei ist TGF-β3 als multifunktionales Zytokin ein bedeutender Botenstoff für Entwicklungsvorgänge und Reparaturprozesse sowohl bei Embryonen und Neonaten als auch im adulten Organismus. Es greift regulierend in die Proliferation und Differenzierung verschiedener Zellen ein und fördert die Expression von extrazellulären Matrixproteinen. Als eine von drei Isoformen wird TGF-β3 von diversen Zellen gebildet ^{5,28,56}, vor allem aber von Thrombozyten ^{2,44}.

2.2.1 TGF-β3 und die Wundheilung

TGF-β3 kommen wichtige Funktionen in allen Phasen des Wundheilungsprozesses zu. Es erhöht die Anzahl sowohl von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen ⁴⁵, als auch von Fibroblasten im Wundgebiet. Aufgrund der Stimulation von Fibroblasten zur Proliferation nimmt die Menge an Granulationsgewebe zu und durch Keratinozytenmigration wird der Reepithelisierungsprozess beschleunigt ^{5,28,33}. Des Weiteren werden Gefässneubildung und -wiederherstellung angeregt ⁵.

2.2.2 TGF-β3 und Narbengewebe

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass die Applikation von TGF-β3 bei Wunden zu verringerter Narbenbildung führt ^{31,40,41,54,55,63}. Diese Wirkung beruht zum einen auf einer verbesserten Organisation der extrazellulären Matrix, die bei Behandlung der Hautwunde mit TGF-β3 eine grössere Ähnlichkeit zur normalen Hautarchitektur zeigt. Zum anderen wird die Ablagerung von übermässigem Kollagen reduziert ⁵³⁻⁵⁵. Dabei spielen auch die zwei anderen Isoformen TGF-β1 und TGF-β2 eine wichtige Rolle. Diese zeigen durch ihre Kollagen-anregende Wirkung ⁴⁹ den genau gegenteiligen Effekt: die Förderung von

Narbengewebe. Daher kann eine Reduzierung von Narben auch durch Zugabe von Antikörpern gegen diese beiden Isoformen erreicht werden^{31,54,55}. TGF- β 3 selbst wirkt TGF- β 1 und TGF- β 2 entgegen, indem es als Antagonist deren Aktivität herunter reguliert und limitiert³⁶. Die gleichzeitige Neutralisation aller drei Isoformen zeigt allerdings keine Wirkung auf Narbengewebe⁵⁴. Es scheint also die Menge von TGF- β 3 im Verhältnis zu TGF- β 1 und TGF- β 2 für eine verringerte Narbenbildung verantwortlich zu sein³⁹.

2.3 Hopfen und Wermut

Extrakte aus Blättern, Früchten, Rinden und Harzen verschiedener Pflanzen werden schon seit Bestehen der Menschheit auf Wunden aufgetragen, um die Heilung zu fördern. In Salben oder alkoholischen Lösungen finden pflanzliche Wirkstoffe bis heute Anwendung⁵². Oft wird ein bestimmter Anteil der Pflanze mit einem Trägerstoff wie Salbe kombiniert⁵⁷. In der Wundtherapie bekannt sind Aloe Vera, Beinwell, Schafgarbe, Johanneskraut, Eukalyptus, Gelbwurzel, Teebaumöl sowie Honig und viele andere. Ihre Wirkungen beruhen auf antimikrobiellen und entzündungshemmenden Eigenschaften sowie der Förderung von Kollagenproduktion, Epithelisierung und Gefäßneubildung⁵⁷. Ebenso sind Effekte gegen bestimmte Bakterien bekannt. Über Hopfen und Wermut sind in Zusammenhang mit der Wundheilung keine wissenschaftlichen Publikationen vorhanden. Den beiden Pflanzen und ihren Inhaltsstoffen werden aber viele bedeutende therapeutische Wirkungen zugeschrieben, die im Weiteren näher erläutert werden.

Hopfen (Humulus lupulus)

Hopfen gehört zur Familie der Hanfgewächse und ist vor allem durch seine Verwendung beim Bierbrauen bekannt. Zudem wirkt Hopfen schlaffördernd und beruhigend^{11,43,62}. Die wirksamen Inhaltsstoffe sind Xanthohumole, Phytoöstrogene und Hopfensäuren. Die meisten Effekte basieren auf den Hopfensäuren alpha und beta (Humulone und Lupulone). Eine sedative Wirkung zeigte sich im Tierversuch durch den oxidativen Abbau der Hopfensäuren zu Methylbutenol^{19,20}. Zudem haben die Hopfensäuren und vor allem auch Xanthohumol Einfluss auf Krebszellen. Sie hemmen deren Proliferation³⁵ sowie deren Nährstoff- und Sauerstoffzufuhr, indem sie die Neubildung von Gefäßen verhindern^{1,15}. Eine weitere Wirkung ist der bakterizide Effekt auf viele gram-positive Bakterien, darunter Streptokokken, Staphylokokken und Mikrokokken, sowie ein fungizider Effekt auf einige Pilzarten¹⁶. Auch antivirale Eigenschaften werden dem Hopfen zugesprochen^{16,64}.

Durch Hemmung des entzündungsfördernden Enzyms Cyclooxygenase 2 und der damit verbundenen Behinderung der Prostaglandin E₂-Synthese, wirken Hopfensäuren weiterhin entzündungshemmend^{18,22}.

Wermut (Artemisia absinthium)

Wermut stammt aus der Familie der Korbblütler und ist als Bestandteil alkoholischer Getränke wie Absinth bekannt, der Modedroge des 19. und 20. Jahrhunderts. Die wirksamen Inhaltsstoffe sind der Bitterstoff Absinthin, und das ätherische Öl Thujon. Thujon ist ein Nervengift, das in hohen Dosen zu Krämpfen und Bewusstlosigkeit führt und für die halluzinogene Wirkung bei übermäßigem Absinthkonsum verantwortlich ist⁶⁷. Vor allem aber ist Wermut ein Stoff, der den Verdauungstrakt beeinflusst. Die ätherischen Öle und die Bitterstoffe stimulieren die Sekretion von Magensäften und den Gallenfluss und wirken dadurch verdauungsfördernd und appetitanregend. Thujon weist zudem eine antibakterielle Wirkung gegen Spezies von Staphylokokken, Pseudomonaden und Klebsiellen auf⁴³. Wermut fördert die Weichteildurchblutung und ist deshalb hilfreich bei Verstauchungen und Quetschungen. In dem Heilkräuterbuch von Weidinger (1981) wird Wermutblättern zudem eine blutstillende und adstringierende Wirkung zugeschrieben⁶⁶. Zur Desinfektion von Verletzungen bei Tieren empfiehlt dieses Kräuterbuch einen Absud aus Wermutblüten und -blättern als Spüllösung. Zudem wird eine Tinktur aus Wermutkraut und weiteren Pflanzenteilen für die Behandlung offener Wunden empfohlen.

2.4 Problemstellung Narbengewebe

Beim Wundheilungsvorgang können zwei wichtige Prozesse unterschieden werden: Regeneration und Reparation. Bei der Regeneration werden die durch die Verletzung verloren gegangenen Zellen durch den gleichen Zelltyp ersetzt. Dies ist nur möglich, wenn eine Population teilungsfähiger Zellen erhalten wurde. Das ist zum Beispiel bei Verletzungen von Hautepithel, Knochen oder Leber der Fall. Daher heilen Schäden der Epidermis (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 18) mit einer „restitutio ad integrum“ ab. Ist allerdings die Dermis verletzt, unterliegt die Heilung dem Prozess der Reparation. Hierbei handelt es sich um eine Überbrückungsreaktion, um die Kontinuität des unterbrochenen Gewebes mittels Narbengewebe wieder herzustellen ⁵⁷. Lokalisation der Wunde, Komplikationen während der Heilung und die Dauer der Entzündungsreaktion nehmen Einfluss auf Grösse und Art der Narbe. Eine normale Narbenbildung führt meist nur zu minimalen funktionellen Defiziten und kosmetischer Beeinträchtigung ³¹. Aus sekundärer Wundheilung aber geht oft stark ausgeprägtes Narbengewebe hervor, das nicht nur zu bedeutenden funktionellen Defiziten, so zum Beispiel der mechanischen Beeinträchtigung eines Gelenkes bei ausgeprägter Narbenbildung in der darüber liegenden Haut führen kann, sondern auch ein kosmetisch unerwünschtes Ergebnis darstellt ^{14,40}. Durch eine angemessene Wundversorgung kann allerdings das medizinische Problem der Narbenbildung mit der einhergehenden funktionellen und kosmetischen Beeinträchtigung reduziert werden ^{7,14,41}.

3 Material und Methoden

3.1 QuickSana®

Die QuickSana® Produkte sind phytotherapeutische Mittel mit Hopfen und Wermut für Säugetiere zur Behandlung von Wunden. Sie wurden von Health Balance, Uzwil, Schweiz, entwickelt. Sie liegen in zwei Darreichungsformen mit sich ergänzendem Effekt vor (siehe Anhang 8.1.2. Abb. 20): als Wundspülung und -reinigung (QuickSana® 1) und als Wunderème (QuickSana® 2). Die Wundspülung und -reinigung ist eine Trägerlösung aus pflanzlichen Extrakten und Mineralstoffen sowie demineralisiertem Wasser. Die Wunderème besteht aus der Trägerlösung und aus Crèmekomponenten (Öle, Emulgatoren, demineralisiertes Wasser). Auf die Trägerlösung werden bioenergetische Informationen übertragen. QuickSana® 1 wird zur Spülung, Reinigung und Desinfektion der Wunde eingesetzt und soll eine Erstversorgung mit Spurenelementen und Bioinformationen bieten. QuickSana® 2 bildet einen wundheilungsfördernden Schutzfilm und dient somit zusätzlich als physikalische Barriere.

3.2 In vitro Studie

3.2.1 Aufbau und Hintergrund

Um potentielle zytotoxische Effekte von QuickSana® ausschliessen zu können, wurde in einem *in vitro* Vorversuch die Wirkung von der QuickSana®-Lösung und der QuickSana®-Crème auf Bindegewebszellen (Fibroblasten) untersucht. Hierfür ist eine Zelllinie embryonaler Mausfibroblasten vom Wildtyp verwendet worden. Nach Inkulturnahme dieser Zellen wurde zunächst das Minimum an fetalem Kälberserum (FCS) ermittelt, welches die Zellen zum Wachsen brauchen. Positive und negative Effekte auf Zellen können dadurch deutlicher sichtbar gemacht werden. Im Anschluss daran wurden die Zellen zusammen mit unterschiedlichen Konzentrationen der QuickSana®-Lösung sowie der Crème kultiviert und das Zellwachstum mikroskopisch beurteilt. Des Weiteren wurde ein Viabilitätstest durchgeführt. Dadurch konnten Aussagen über das Wachstum der Fibroblasten getroffen werden.

3.2.2 Kultivierung der Zellen und Bestimmung der FCS Konzentration

Die aufgetauten Zellen wurden in 75 cm² Zellkulturflaschen (Corning® Flask, Corning Incorporated, NY 14831) mit 15 ml Nährmedium bei 37 °C kultiviert. Als Medium wurde Dulbecco Modified Eagle Medium (Sigma D6429 500 ml, Sigma-Aldrich GmbH, Buchs, Schweiz) mit 2% Penicillin/Streptomycin und 10% fetales Kälberserum (GIBCO®, Invitrogen AG, Basel, Schweiz) verwendet. Das Medium wurde standardmässig alle zwei Tage gewechselt. Konfluente Zellrasen wurden gesplittet und neu ausgesät. Zur Bestimmung der minimalen Konzentration an FCS, das die Fibroblasten im Nährmedium zur Proliferation brauchen, wurden die Zellen mit Trypsin-EDTA Lösung (Sigma T3924 100 ml, Sigma-Aldrich GmbH, Buchs, Schweiz) trypsinisiert, zentrifugiert und anschliessend in FCS-freiem Medium resuspendiert. Daraufhin wurden je 20 000 Zellen pro Loch in eine 24 Loch Platte (Nunclon™ Suface, Nunc A/S, Roskilde, Danmark) gegeben. Hinzu wurde Medium mit unterschiedlichen Konzentrationen an FCS pipettiert (0; 1; 2; 2.5; 5; 10%) und die Platten bei 37°C 24 Stunden inkubiert. Das Wachstum wurde mikroskopisch beurteilt, fotografisch festgehalten und es wurde ein Viabilitätstest durchgeführt.

3.2.3 MTT Viabilitätstest

MTT (Methylthiazoltetrazoliumbromid) ist ein lösliches gelbes Salz, welches durch aktive Dehydrogenasen aus den Mitochondrien der Zellen zu einem unlöslichen, blauen Formazankomplex oxidiert wird. Der Umsatz an MTT und damit die Menge an gebildetem, blauen Farbstoff entspricht somit der Anzahl an stoffwechselaktiven, vitalen Zellen. Zu Beginn des Tests wurde von den Löchern der 24 Loch Platte das Medium abgesaugt und 500µl MTT Lösung (Sigma M5655, Sigma-Aldrich GmbH, Buchs, Schweiz) zu den Zellen gegeben. Die Zellen wurden dann für vier Stunden bei 37°C weiter inkubiert. Danach wurde das MTT wieder abgesaugt und 200µl Dimethylsulfoxid (DMSO) (Sigma D5879 purum 1lt, Sigma-Aldrich GmbH, Buchs, Schweiz) hinzu gegeben. Dadurch wurden gebildete Formazankristalle gelöst. Aus jedem Loch sind nach fünf Minuten Wartezeit und kurzem Schwenken je 100µl auf eine 96 Loch Platte (Nunclon™ Suface, Nunc A/S, Roskilde, Danmark) übertragen worden. Zur Kontrolle wurden drei Löcher ausschliesslich mit 100µl DMSO gefüllt. Dann wurde die Menge an gebildetem, blauen Farbstoff im Plattenmessgerät (Plate Reader, Tecan, Infinite M200) durch die photometrische Messung der Extinktion bei 540 nm bestimmt.

3.2.4 Zytotoxizitätstest von QuickSana® 1, QuickSana® 2 und Alkohol als Kontrolle

Zur Bestimmung des Effekts der QuickSana®-Lösung wurden Nährmedien mit 2% und 10% FCS jeweils mit unterschiedlichen Konzentrationen (0; 1; 5; 10; 25 und 50 %) der QuickSana®-Lösung versetzt. In einer 24 Loch Platte mit 20 000 Zellen pro Loch wurden die Zellen mit je 1 ml dieser Medien kultiviert. Nach 24 Stunden wurde dann ein MTT Viabilitätstest wie oben beschrieben durchgeführt. Zudem ist das Wachstum mikroskopisch beurteilt und fotografisch festgehalten worden.

Da die QuickSana®-Lösung einen relativ grossen Anteil von 7.7 % an Alkohol enthält, wurden zusätzlich identisch aufgebaute Kontrollversuche mit unterschiedlichen Alkoholmengen (0; 1; 5; 10; 25 und 50 %) durchgeführt, um einen möglichen Effekt des Alkohols auf die Zellen zu bestimmen. Dabei wurde entsprechend dem Alkoholgehalt der QuickSana®-Lösung 7.7 prozentiger Alkohol verwendet.

Weiterhin wurde der Effekt der QuickSana®-Crème untersucht. Dazu wurden in eine 24 Loch Platte ebenfalls 20 000 Zellen und 1ml Medium mit entweder 2% oder 10% FCS pipettiert und die Platte für 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Nach dieser Zeit waren die Zellen konfluent. Zu den konfluenten Zellen wurde eine Menge an QuickSana®-Crème hinzugefügt, die etwa der Grösse eines Reiskorns entsprach. Nach weiteren 24 Stunden Inkubation erfolgte zunächst eine mikroskopische Beurteilung der Zellen. Anschliessend wurde die Crème aus den Löchern mit Medium ausgewaschen und erneut eine Beurteilung vorgenommen.

3.3 *In vivo* Studie

3.3.1 Versuchstiere

Die 22 für die Studie verwendeten Ratten stammten aus der anerkannten Versuchstierzucht Janvier (Janvier S.A.S., Le Genest-St.-Isle, Frankreich). Alle Tiere wurden vom Züchter negativ auf diverse relevante Viren, Bakterien, Endo- und Ektoparasiten getestet. Die Ratten waren alle weiblich, hatten ein Gewicht zwischen 280 und 320 Gramm und gehörten dem Stamm Sprague Dawley an. Zur Eingewöhnung wurden sie 14 Tage vor der Operation in Gruppen von zwei bis drei Tieren in Typ IV Käfigen aufgestellt und im Institut für Labortierkunde untergebracht. Die Käfige waren mit Holzspänen eingestreut und enthielten einen Lauftunnel. Den Tieren standen ad libitum Standardfutter für Nagetiere und Wasser zur Verfügung. Innerhalb der Eingewöhnungsphase wurden die Ratten täglich mit der menschlichen Hand vertraut gemacht, um die später folgende Behandlung der Tiere stressfrei durchführen zu können.

3.3.2 Aufbau der Studie

Die Durchführung der Versuche erfolgte nach den geltenden Bestimmungen des Schweizer Tierschutzgesetzes und wurde vom kantonalen Veterinäramt bewilligt (Bewilligungsnummer 147/2010). Bei jedem Tier wurden auf dem Rücken sechs standardisierte Wunden von acht Millimeter Durchmesser gesetzt und nach einem bestimmten Plan (Tabelle 3.3.2c) behandelt. Die Behandlungszeiträume betrugen drei, sieben oder 28 Tage. Die Wunden der Tiere aus der sieben-Tage-Gruppe wurden jeweils nach einem bestimmten Verteilungsschema (Tabelle 3.3.2a) mit QuickSana[®] 1 (Health Balance AG, Uzwil, Schweiz), QuickSana[®] 2 (Health Balance AG, Uzwil, Schweiz) oder mit beidem behandelt, sowie Negativkontrollwunden nicht behandelt. In der drei- und in der 28-Tage-Gruppe wurden zusätzlich, die standardmässig in der Klinik zur Wundversorgung verwendeten Substanzen Betadine (Betadine Lösung standardisiert, Mundipharma Medical Company, Hamilton Bermuda) und Chlorhexidin (Chlorhexidin 0,05% Spüllösung steril pyrogenfrei, Kantonsapotheke Zürich) eingesetzt. Als Negativkontrollen dienten wiederum Wunden, die nicht behandelt wurden (Tabelle 3.3.2b). Eine Übersicht liefern die Tabellen 3.3.2a-c.

Tabelle 3.3.2a: Schema der Wundbehandlung (Ratten der 7-Tage-Gruppe)

	Vorne rechts	Vorne links	Mitte rechts	Mitte links	Hinten rechts	Hinten links
Ratte 1	Unbehandelte Wunde	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1	QuickSana® 2
Ratte 2	QuickSana® 1	QuickSana® 2	Unbehandelte Wunde	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1+2
Ratte 3	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1	QuickSana® 2	Unbehandelte Wunde	Unbehandelte Wunde
Ratte 4	Unbehandelte Wunde	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1+2	QuickSana® 2	QuickSana® 1
Ratte 5	QuickSana® 2	QuickSana® 1	Unbehandelte Wunde	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1+2
Ratte 6	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1+2	QuickSana® 2	QuickSana® 1	Unbehandelte Wunde	Unbehandelte Wunde

Tabelle 3.3.2b: Schema der Wundbehandlung (Ratten bei der 3- und der 28-Tage-Gruppe)

	Vorne rechts	Vorne links	Mitte rechts	Mitte links	Hinten rechts	Hinten links
Ratte 7+15	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1	QuickSana® 2	Betadine	Chlorhexidine
Ratte 8+16	Chlorhexidine	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1	QuickSana® 2	Betadine
Ratte 9+17	Betadine	Chlorhexidine	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1	QuickSana® 2
Ratte 10+18	QuickSana® 2	Betadine	Chlorhexidine	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1
Ratte 11+19	QuickSana® 1	QuickSana® 2	Betadine	Chlorhexidine	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2
Ratte 12+20	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1	QuickSana® 2	Betadine	Chlorhexidine	Unbehandelte Wunde
Ratte 13+21	Unbehandelte Wunde	QuickSana® 1+2	QuickSana® 1	QuickSana® 2	Betadine	Chlorhexidine
Ratte 14+22	Chlorhexidine	Betadine	QuickSana® 2	QuickSana® 1	QuickSana® 1+2	Unbehandelte Wunde

Tabelle 3.3.2c: Behandlungsplan der verschiedenen Behandlungsgruppen

	Tag 1 (OP)	Tag 2-6	Tag 7-12	Tag 13-28
QuickSana® 1	3x spülen <i>unmittelbar nach OP</i> <i>3 Stunden nach OP</i> <i>6 Stunden nach OP</i>	/	/	/
QuickSana® 2	1x <i>9 Stunden nach OP</i>	5x täglich <i>alle 3 Stunden</i>	3x täglich	2x täglich

	Tag 1 (OP)	Tag 2	Tag 3-7	Tag 7-28
Betadine	2x spülen <i>unmittelbar nach OP</i> <i>9 Stunden nach OP</i>	2x täglich	2x täglich	/
Chlorhexidin	2x spülen <i>unmittelbar nach OP</i> <i>9 Stunden nach OP</i>	2x täglich	2x täglich	/

3.3.3 Operation

Zur Narkoseeinleitung wurden die Ratten in eine Anästhesiekammer überführt, in die ein Isofluran-Sauerstoffgemisch eingeleitet wurde. Der Sauerstoffflow betrug 0,7 Liter pro Minute und die Isoflurankonzentration 2.5-5 Vol% (AttaneTM Isoflurane ad us vet, Provet AG, Lyssach, Schweiz). Nach Entnahme der Ratten aus der Box wurde den Tieren zur Schmerztherapie 25 mg/kg Körpergewicht (KGW) Ketamin (Ketanarkon 100 ad us. vet. Streuli Parma AG, Uznach, Schweiz) subkutan verabreicht. Aufrechterhalten wurde die Narkose mit einer Isofluran Maskenanästhesie mit 2,5 Vol% Isofluran und 0,7 Liter Sauerstoffflow pro Minute. Zur sicheren Tieridentifikation wurde jeder Ratte ein Transponder (Datamars PetLinkTM DATAMARS SA, Bedano-Lugano, Schweiz) unter die Haut der linken Halsseite platziert. Die durch den Stich verursachte Hautöffnung wurde mit einem Einzelheft verschlossen. Zudem wurden mit wasserfesten Filzstiften die Schwänze mit unterschiedlich farbigen Ringen markiert. Um ein Austrocknen der Kornea zu vermeiden, erhielten die Ratten eine epithelschützende Augensalbe (Vitamin A Augensalbe, Bausch&Lomb Swiss AG, Steinhausen, Schweiz). Nach dem Scheren der

Rückenhaare erfolgte die Positionierung der Tiere in Brust-Bauchlage auf einer Wärmeplatte auf dem Operationstisch. Der Operationsbereich auf dem Rücken wurde zur Desinfektion mehrmals mit Kodan® (Tinktur forte Schülke&Mayr AG, Zürich, Schweiz) besprüht. Durch eine sechslöchrige Schablone (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 21) aus sterilem Einlagekrepppapier (Salzmann AG, St.Gallen, Schweiz) wurden anschliessend mit einer Biopsiestanze (Biopsy Punch, Ø 8 mm, Stiefel Laboratories SRL, Milano, Italien) sechs Löcher in die Rückenhaut gestanzt (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 22). Die Schablone stellte sicher, dass sich die Löcher im immer gleichen Abstand voneinander befanden. Die Wunden von 8mm Durchmesser und damit einer Wundfläche von circa 50 mm² reichten bis auf die Muskelschicht (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 23).

3.3.4 Postoperatives Management

Direkt im Anschluss an das Stanzen der Löcher erfolgte die Spülung der Wunden nach Behandlungsplan (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 24). Dafür wurden die Wunden mit circa 0.3 ml der entsprechenden Lösung beträufelt und wieder abgetupft. Nachdem die Ratten von der Atemmaske befreit worden waren, wurden sie in Aufwachboxen auf Wärmekissen platziert. Zur Schmerzprävention wurden 0.075 mg/KGW Buprenorphin (Temgesic®, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) subkutan verabreicht. Mit Wiederkehr des Stehvermögens sind die Tiere einzeln, aber in Sichtkontakt zu den Anderen in Typ IV Käfigen untergebracht worden. Es standen unmittelbar wieder Futter und Wasser zur freien Verfügung. Um die Schmerztherapie aufrecht zu erhalten, erhielten die Tiere acht Stunden später eine weitere Buprenorphin-Injektion und anschliessend für weitere drei Tage Buprenorphin über das Trinkwasser (0.6 mg/250 ml Wasser, Temgesic®, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz). Neun Stunden nach der Operation erfolgte die erste Applikation von QuickSana® 2 (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 25). Die postoperative Behandlung und Kontrolle verliefen folgendermaßen: Über den entsprechenden Zeitraum von drei, sieben und 28 Tagen, wurden die Wunden der handzahmen Tiere, gemäß des Behandlungsplanes (Tabelle 3.3.2c) versorgt. Täglich wurden die Wunden kontrolliert und der Heilungsverlauf beobachtet sowie fotografisch festgehalten (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 26). Zur Ermittlung der Wundgrösse wurde hierbei bei den Tieren der sieben-Tage-Gruppe eine Schablone um die Wunden auf den Rücken der Tiere gelegt. Bei den Tieren der drei- und der 28-Tage-Gruppe ist während des Fotografierens zur Orientierung ein Massstabaufkleber auf dem Rücken fixiert worden und die Ratten wurden durch einen nach oben geöffneten Tunnel laufen gelassen. Ausserdem wurde bei allen Tieren zweimal täglich eine Untersuchung des Allgemeinbefindens durchgeführt und wöchentlich das Gewicht kontrolliert.

3.3.5 Probengewinnung und -aufbereitung

Am Ende der entsprechenden Behandlungszeiträume, also drei, sieben und 28 Tage nach der Operation, erfolgte die Euthanasie der Tiere. Hierfür wurden diese zunächst mit einer subkutanen Injektion von Ketamin (100 mg/kg KGW, Ketanarkon 100 ad us. vet., Streuli Parma AG, Uznach, Schweiz) und Xylazin (0.05 mg/kg KGW, Xylazin Streuli ad.us.vet., Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) in Narkose gelegt und im Anschluss mit 2 ml Pentobarbital (Esconarkon ad us.vet., Streuli Pharma SA, Uznach, Schweiz) intrakardial euthanasiert. Der makroskopische Status der Wundheilung wurde fotografisch festgehalten. Bei den Tieren der 28-Tage-Gruppe wurde zusätzlich mit einer Schieblehre die Grösse der Narbe ausgemessen. Zudem wurden die Narben hinsichtlich Sichtbarkeit, Einziehung und Dicke der Haut beurteilt. Hiernach erfolgten das Abpräparieren der Rückenhaut und deren Zerteilung in sechs Quadrate, welche jeweils die Wunden enthielten. Die Hautbereiche mit den Wunden wurden mit einem Skalpell in zwei Hälften geteilt. Eine Hälfte der jeweiligen Wunde wurde anschliessend in Kryoröhrchen (CryoPure Gefäss, 1.8 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) überführt, in einen Behälter mit flüssigem Stickstoff verbracht und anschliessend bei minus 80°C eingefroren. Die andere Hälfte wurde in Probenröhrchen mit 4%iger gepufferter Formalinlösung zur Fixierung überführt. Alle Behältnisse waren mit der projektbezogenen Tiernummer und der Wundlokalisation beschriftet. Für die Anfertigung der histologischen Präparate wurden die in Formalin fixierten Wundhälften nach 24 Stunden herausgenommen und so zugeschnitten, dass die Proben den Defekt sowie auf beiden Seiten intakte Hautbereiche enthielten. Dann wurden die zugeschnittenen Wunden mit dem Defekt nach oben in Einbettkassetten mit Netzen eingeklemmt, mit einer Histologienummer beschriftet und zur Entwässerung in die entsprechende Maschine (Tissue-Tek[®] Vip[™], Digitana AG, Horgen, Schweiz) überführt. Anschliessend erfolgte die Einbettung in Paraffin. Dafür wurden die Proben wieder aus den Netzen herausgelöst und mit den Einbettkassetten in eine Form für Paraffinblöcke überführt. Diese wurden in der Einbettvorrichtung (Tissue-Tek[®], Digitana AG, Horgen, Schweiz) von Hand mit Paraffin übergossen und ausgehärtet. Aus diesen Blöcken wurden zur Herstellung der Präparate mit einem Mikrotom (Rotationsmikrotom HM355S, Mikrom International GmbH, Walldorf, Deutschland) drei Mikrometer dünne Schnitte geschnitten. Anschliessend wurden die Schnitte mit verschiedenen Methoden gefärbt. Zunächst wurde als Übersicht über die einzelnen Gewebe, eine Hämatoxilin-Eosin (HE) Färbung durchgeführt. Dabei färben sich die Zellkerne blau und das Zytoplasma rot. Des Weiteren wurde zur Darstellung von Bindegewebe eine Gomori Blue Trichrome

Färbung erstellt, bei der sich das Kollagen blau, die Zellkerne blau-schwarz und das Zytoplasma rot darstellen. Zudem wurden die Schnitte immunhistologisch gefärbt. Zum einen wurde TGF- β 3, zum anderen Faktor 8, ein Glykoprotein im Endothel von Gefässen, immunhistologisch dargestellt. In beiden Fällen stellte sich eine positive Antigen-Antikörperreaktion rot dar. Die immunhistologische Darstellung von TGF- β 3 erfolgte dabei durch eine indirekte Immunperoxidase-Reaktion. Dafür wurden die Schnitte zunächst entparaffiniert und in einem Citratpuffer, mit einem pH von 6, für 20 Minuten bei 750 Watt in der Mikrowelle wärmebehandelt. Anschliessend wurde ein endogener Peroxidaseblock durchgeführt und im Folgenden die Schnitte mit 1:100 verdünnten, polyklonalen Kaninchen-Anti-TGF- β 3 Antikörpern (abcam ab 15537) bei Raumtemperatur über Nacht inkubiert. Danach erfolgte die Zugabe der Dako EnvisionTM-Lösung (Dako Schweiz AG, Baar) und eine weitere Inkubation von 30 Minuten bei Raumtemperatur. Die Farbreaktion wurde mittels eines AEC (rot) Substrat Kits (Invitrogen 00-2007) hervorgerufen. Die immunhistologische Darstellung des Faktor 8 erfolgte durch eine Streptavidin-Peroxidase-Reaktion. Hierfür wurden die Schnitte ebenfalls entparaffiniert, dann fünf Minuten mit Proteinase K (Dako S2019) behandelt und die endogene Peroxidase blockiert. Anschliessend wurden die vorverdünnten polyklonalen Kaninchen-Anti-Faktor 8 Antikörper (Dako N1505) auf die Schnitte gegeben und diese für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss wurde ein ChemMate Detektionskit (Dako K5003) verwendet und die Farbreaktion mit einem ebenfalls im Detektionskit enthaltenden AEC (rot) Substrat hervorgerufen.

Eine Übersicht über die Proben liefert Tabelle 3.3.5.

Tabelle 3.3.5: Probenverteilung und Färbungen (Übersicht)

Gruppe	Proben	Färbung
3 Tage	n = 48	Hämatoxinilin Eosin TGF-β3 Immunhistologie
Kontrolle	n = 8	
QS 1	n = 8	
QS 2	n = 8	
QS 1&2	n = 8	
Betadine	n = 8	
Chlorhexidin	n = 8	
7 Tage	n = 36	Hämatoxinilin Eosin Gomoris Blue Trichrome TGF-β3 Immunhistologie Faktor 8 Immunhistologie
Kontrolle	n = 12	
QS 1	n = 6	
QS 2	n = 6	
QS 1&2	n = 12	
28 Tage	n = 48	Hämatoxinilin Eosin Gomoris Blue Trichrome TGF-β3 Immunhistologie Faktor 8 Immunhistologie
Kontrolle	n = 8	
QS 1	n = 8	
QS 2	n = 8	
QS 1&2	n = 8	
Betadine	n = 8	
Chlorhexidin	n = 8	

3.3.6 Untersuchungsmethoden und Probenauswertung

3.3.6.1 Makroskopische Auswertung

Über die Zeiträume von drei, sieben und 28 Tagen wurden die Wunden täglich fotografiert und der Wundheilungsverlauf protokolliert. Dabei berücksichtigt wurden makroskopische Unterschiede bezüglich Entzündung, Exsudation, Granulation, Grösse der Wunde, Kontraktion der Wundränder sowie die Narbenentwicklung zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen. Von den Fotos des siebten Tages der sieben-Tage-Gruppe wurde mit Hilfe einer Schablone, welche eine Skala in Millimetern aufwies, und dem Computermessprogramm Image J die Grösse der Wundfläche jeder Wunde ermittelt. Dabei wurde an der jeweils längsten Stelle die Länge und der breitesten Stelle die Breite der Wunde auf dem Foto ermittelt. Anhand der Formel für die Fläche einer Ellipse wurde dann die Wundfläche in mm^2 errechnet, da die Wunden eine ellipsoide Form aufwiesen. Bei der 28-Tage-Gruppe wurde am Tag der Euthanasie mit einer Schieblehre die Länge und die Breite der Narben gemessen und die Grösse, entsprechend der rechteckigen Form der Narben, mit der Formel für die Fläche eines Rechteckes in mm^2 errechnet. Zudem wurden die Narben makroskopisch beurteilt. Von drei unabhängigen, verblindeten Personen wurde zunächst die Einziehung der Narben mit einem Score von null bis drei bewertet. Dies erfolgte visuell und durch Tasten mit den Fingern.

Tabelle 3.3.6.1a: Beurteilungsschema für die Einziehung der Narben

Einziehung der Narbe	Score
Nicht eingezogen	0
Wenig bis leicht eingezogen	1
Mittelmässig eingezogen	2
Viel bis stark eingezogen	3

Zudem wurde durch Tasten mit den Fingern die Verdickung der Haut im Bereich der Narbe beurteilt. Dabei wurde eine Hautfalte, welche die Narbe beinhaltete, zwischen Daumen und Zeigefinger genommen und die Verdickung in diesem Bereich erfühlt und bewertet.

Tabelle 3.3.6.1b: Beurteilungsschema für die Verdickung der Haut im Narbenbereich

Hautverdickung	Score
Keine Verdickung	0
Leichte Verdickung	1
Mittelmässige Verdickung	2
Starke Verdickung	3

Ebenfalls beurteilten alle drei verblindeten Personen unabhängig voneinander, rein visuell die Sichtbarkeit der Narbe. Dabei wurden Grösse, Form, Beschaffenheit und Rötung berücksichtigt und wieder mit einem Score von 0 bis 3 bewertet.

Tabelle 3.3.6.1c: Beurteilungsschema für die Sichtbarkeit der Narben

Sichtbarkeit der Narbe	Score
Narbe kaum mehr erkennbar	0
Narbe klein, schmal, glatt und hell	1
Narbe etwas grösser, unförmig, uneben und rosa	2
Narbe recht gross, unförmig, uneben und rötlich	3

Eine Übersicht über die makroskopischen Auswertungen liefert Tabelle 3.3.6.1d

Tabelle 3.3.6.1d: Makroskopische Auswertungen (Übersicht)

Gruppe	Auswertung	Methodik
3 Tage	Wundheilungsverlauf	Visuell
7 Tage	Wundheilungsverlauf	Visuell
	Grössenbestimmung der Wundfläche	Fotoausmessung mit Computerprogramm Image J
28 Tage	Wundheilungsverlauf	Visuell
	Grössenbestimmung der Narben	Narbenausmessung am Tier mit Schieblehre
	Beurteilung der Narben	Visuell und taktil mit Scoresystem

3.3.6.2 Histologische Auswertung

Hämatoxin Eosin Färbung

Zunächst erfolgte bei der drei- und sieben-Tage-Gruppe eine mikroskopische Beurteilung der Entzündungsreaktionen im Wundbereich. Hierfür wurden bei der drei-Tage-Gruppe die Feuchtigkeit der Wundoberfläche, Wundödem, neutrophile Granulozyten und Hyperämie im Wundbereich nach Menge und Intensität beurteilt und mit einem Scoresystem von eins bis drei bewertet. Bei der sieben-Tage-Gruppe wurden Exsudation, sowie Lymphozyten, Makrophagen und neutrophile Granulozyten ebenfalls nach Menge und Intensität beurteilt und mit einem Scoresystem von eins bis drei bewertet. Anschliessend wurden die gefärbten Präparate mit Hilfe des Mikroskops (Leica DMR, Leica Mikrosystems Wetzlar GmbH, Deutschland), einer Digitalkamera (Leica DFC 320) und der entsprechenden Software (Image Access 10 Standard, Imagic Bildverarbeitung AG, Glattbrugg, Schweiz) in den Computer eingelesen. Für die sieben-Tage-Gruppe wurden die Schnitte zunächst unter dem 1.25x Objektiv abfotografiert. Auf diesen Bildern waren jeweils die Wunde und beidseits daneben gesunde Haut zu sehen. Die Übergänge vom Defekt zur gesunden Haut der beiden Seiten wurden als linker und rechter Wundrand bezeichnet. Diese Wundränder sowie das Granulationsgewebe der Wunde wurden abfotografiert und die Bilder digitalisiert. Mit Hilfe des Computermessprogrammes der Image Access Software wurde die Fläche des sich jeweils an den Wundrändern neu gebildeten Epithels in μm^2 bestimmt und in mm^2 umgerechnet (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 32 und 33). Auch die Dicke des Granulationsgewebes wurde in μm ausgemessen und in mm umgerechnet (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 30). Die HE-gefärbten Schnitte der 28-Tage-Gruppe wurden ebenfalls mit dem Objektiv 1.25x abfotografiert. Anschliessend wurde mit Hilfe des Computermessprogrammes von Image Access die durchschnittliche Dicke des neuen Bindegewebes gemessen und ins Verhältnis zur Dicke der umliegenden gesunden Haut gesetzt, um zu errechnen, wie viel Prozent der ursprünglichen Hautdicke erreicht wurden (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 31).

Gomoris Blue Trichrome Färbung

Die mit Gomoris Blue Trichrome gefärbten Schnitte der sieben-Tage-Gruppe wurden unter dem Objektiv 20x digitalisiert. Zur Auswertung kam jeweils ein Ausschnitt aus der Mitte sowie aus dem linken und rechten Randbereich des Granulationsgewebes (Bindegewebe) der Wunde. Es wurden drei Ausschnitte bewertet, da bei der zur Beurteilung benötigten Vergrößerung nicht alle Bereiche des Bindegewebes in ein Blickfeld passten. Bewertet wurden Qualität und Menge des Bindegewebes. Die Qualität setzte sich aus den Faktoren Dichte der Fasern und Farbintensität zusammen. Hierfür wurde wieder ein Score verwendet. Die Richtwerte für den Score von eins bis drei wurden subjektiv festgelegt (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 35-37).

Tabelle 3.3.6.2a: Beurteilungsschema für die Menge an Bindegewebe

Menge an Bindegewebe	Score
Gering, wenig Fasern	1
Mittel, einige Fasern	2
Gross, viele Fasern	3

Tabelle 3.3.6.2b: Beurteilungsschema für die Qualität des Bindegewebes

Qualität des Bindegewebes	Score
Gering, Fasern nicht dicht, hellblau	1
Mittel, Fasern etwas dichter, gebündelt, mittelblau	2
Hoch, Fasern dicht gebündelt, dunkelblau	3

Für die 28-Tage-Gruppe wurden die Menge und die Qualität des neuen Bindegewebes in gleicher Weise wie bei der sieben-Tage-Gruppe ausgewertet. Hierbei wurden vier Ausschnitte beurteilt: aus dem oberen, unteren, linken und rechten Bereich des Bindegewebes. Ausserdem wurde mit dem Objektiv 5x das neu gebildete Epithel abfotografiert und mit Hilfe des Image Access Computermessprogrammes die durchschnittliche Dicke in μm gemessen und in mm umgerechnet (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 34).

Eine Übersicht über die histologischen Auswertungen liefert Tabelle 3.3.6.2c

Tabelle 3.3.6.2c: Auswertungen der Histologie (Übersicht)

Gruppe	Auswertung	Methodik	Färbung
3 Tage	Beurteilung der Entzündung	Beurteilung mit Scoresystem	Hämatoxilin Eosin
7 Tage	Beurteilung der Entzündung (Score)	Beurteilung mit Scoresystem	Hämatoxilin Eosin
	Fläche an neuem Epithel (mm ²)	Computermessprogramm von Image Access	Hämatoxilin Eosin
	Dicke des neuen Bindegewebes (mm)	Computermessprogramm von Image Access	Hämatoxilin Eosin
	Menge & Qualität des neuen Bindegewebes (Score)	Beurteilung mit Scoresystem	Gomoris Blue Trichrome
28 Tage	Dicke des neuen Epithels (mm)	Computermessprogramm von Image Access	Gomoris Blue Trichrome
	Dicke des neuen Bindegewebes im Vergleich zur umliegenden gesunden Haut (%)	Computermessprogramm von Image Access	Hämatoxilin Eosin
	Menge & Qualität des neuen Bindegewebes (Score)	Beurteilung mit Scoresystem	Gomoris Blue Trichrome

3.3.6.3 Immunhistologische Auswertung

TGF-β3 Immunhistologie

Eine positive Antikörper-Antigenreaktion von TGF-β3 stellt sich rot dar. Die immunhistologischen Schnitte wurden unter dem Objektiv 20x digitalisiert. Für die sieben-Tage-Gruppe diente zur Auswertung immer ein Ausschnitt aus der Mitte des Granulationsgewebes, sowie das neue Epithel am rechten und linken Wundrand. Für die drei- und die 28-Tage-Gruppe wurde der Ausschnitt bewertet, in dem eine positive Reaktion zu sehen war. Bewertet wurden Farbmenge und -intensität der positiven Reaktion mit einem Score von eins bis drei. Die Richtwerte für den Score wurden wiederum subjektiv festgelegt (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 38-40).

Tabelle 3.3.6.3a: Beurteilungsschema für die TGF-β3 Expression

Menge und Intensität	Score
Gering	1
Mittel	2
Hoch	3

Faktor 8 Immunhistologie

Eine positive Antikörper-Antigenreaktion von Faktor 8 stellt sich rot dar. Die Digitalisierung der Präparate erfolgte für die sieben-Tage-Gruppe ebenfalls unter dem Objektiv 20x. Für die Auswertung wurden jeweils ein Ausschnitt aus dem tiefen, älteren Granulationsgewebe und ein Ausschnitt aus dem oberen, neueren Granulationsgewebe gewählt, da bei der gewählten Vergrößerung nicht beide Bereiche in ein Blickfeld passten. Mit Hilfe der positiven Reaktion von Faktor 8 wurde dann die Anzahl der Gefässe pro Ausschnitt ausgezählt und dafür ein Score erstellt (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 41-43).

Tabelle 3.3.6.3b: Beurteilungsschema für die Anzahl an Gefässen bei der 7-Tage-Gruppe

Anzahl an Gefässen	Score
< 5	1
5-15	2
> 15	3

Bei der 28-Tage-Gruppe wurden die Schnitte unter dem Objektiv 10x fotografiert. Auch hier wurde jeweils ein Ausschnitt aus dem unteren und aus dem oberen Bereich des Bindegewebes gewählt. Aufgrund der Schwierigkeit, auf den Schnitten die genaue Anzahl an Gefässen auszuzählen, wurde hier nicht die Anzahl, sondern der subjektive Eindruck der Menge an Gefässen ermittelt und dafür ein Score erstellt.

Tabelle 3.3.6.3c: Beurteilungsschema für die Menge an Gefässen bei der 28-Tage-Gruppe

Menge an Gefässen	Score
Wenige	1
Mittelmässig viele	2
Viele	3

Eine Übersicht über die immunhistologischen Auswertungen liefert Tabelle 3.3.6.3d

Tabelle 3.3.6.3d: Auswertungen der Immunhistologie (Übersicht)

Gruppe	Auswertung	Methodik	Färbung
3 Tage	Menge & Intensität der TGF-β3 Immunreaktion	Beurteilung mit Scoresystem	TGF-β3 Immunhistologie
7 Tage	Menge & Intensität der TGF-β3 Immunreaktion	Beurteilung mit Scoresystem	TGF-β3 Immunhistologie
	Anzahl an Gefässen mit Hilfe der positiven Immunreaktion	Auszählen und Beurteilung mit Scoresystem	Faktor 8 Immunhistologie
28 Tage	Menge & Intensität der TGF-β3 Immunreaktion	Beurteilung mit Scoresystem	TGF-β3 Immunhistologie
	Menge an Gefässen mit Hilfe der positiven Immunreaktion	Beurteilung mit Scoresystem	Faktor 8 Immunhistologie

3.3.7 Statistik

Die ermittelten Werte wurden mit dem Statistikprogramm IBM® SPSS®, Version 19.0 analysiert. Die Daten sind dabei einer faktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen worden. Mittelwerte und Standardabweichungen wurden als Daten der deskriptiven Statistik ermittelt. Post Hoc Tests wurden nach Bonferroni durchgeführt. Als statistisch signifikant wurden alle p-Werte < 0.05 angesehen. Für die Korrelation der einzelnen Parameter ist die Auswertung nach Pearson verwendet worden. Auch hier galt ein p-Wert < 0.05 als statistisch signifikant.

4 Resultate

4.1 *In vitro* Studie

4.1.1 Kultivierung der Zellen und Bestimmung der FCS Konzentration

Das Auftauen und die Kultivierung der Zellen verliefen durchweg komplikationslos. Die Fibroblasten zeigten in den Zellkulturflaschen ein gutes Wachstums- und Teilungsverhalten und waren bei mikroskopischer Betrachtung stets morphologisch unauffällig. In der 24-Loch-Platte zeigten die Zellen ohne FCS und die Zellen, die mit 1% FCS im Medium kultiviert wurden, über den Beobachtungszeitraum von drei Tagen mikroskopisch kein Wachstum. Der Boden des Plattenlochs, das mit dem Medium befüllt worden war, das 2% FCS enthielt, war hingegen am dritten Tag gut mit Zellen besiedelt. Die Zellen waren ausdifferenziert und hatten ein Netzwerk gebildet. In Löchern mit 5% FCS im Medium waren die Zellen konfluent. Im Medium mit 10% FCS war die Zelldichte sehr hoch, so dass Zellgrenzen kaum zu erkennen waren. Das Wachstums- und Teilungsverhalten der Zellen in den Nährmedien mit den verschiedenen Konzentrationen an FCS konnten zusammenfassend folgendermassen beschrieben werden: $0\% = 1\% < 2\% < 2.5\% < 5\% < 10\%$ FCS (siehe Anhang 8.1.1, Abb. 1-5). Dass heisst, je mehr FCS im Medium enthalten war umso grösser war das Wachstums- und Teilungsverhalten der Fibroblasten. Im MTT Viabilitätstest zeigte sich, zu den mikroskopischen Beobachtungen passend, eine zunehmende Lebensfähigkeit der Zellen bei zunehmender Konzentration an FCS im Medium (siehe Anhang 8.2.1, Graphik 1 und 8.3.1, Tab. 1).

Tab.4.1.1a: Ergebnisse des MTT Viabilitätstests der FCS Konzentrationen (Übersicht)
Lebensfähigkeit der Zellen, bei steigender Konzentration an FCS im Medium (Extinktion).
Aus einem repräsentativen Versuch aus drei Versuchen sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der gemessenen Extinktionen aus jeweils vier Löchern der Testplatte dargestellt.

FCS	0%	1%	2%	2.5%	5%	10%
Extinktion	0.11 ± 0.0029	0.15 ± 0.0036	0.18 ± 0.0056	0.19 ± 0.00067	0.21 ± 0.0021	0.26 ± 0.0021

Tab.4.1.1b: Lebensfähigkeit der Zellen bei steigender Konzentration an FCS im Medium, umgerechnet in Prozent, bezogen auf 10% FCS

FCS	0%	1%	2%	2.5%	5%	10%
Zellebensfähigkeit	42%	58%	69%	73%	81%	100%

4.1.2 Zytotoxizitätstest von QuickSana[®] 1, QuickSana[®] 2 und Alkohol als Kontrolle

QuickSana[®] 1

Unter mikroskopischer Betrachtung zeigten sowohl die Zellen im Medium mit 2% FCS als auch im Medium mit 10% FCS ohne Zugabe von QuickSana[®] 1 das grösste Wachstumsverhalten. Bei einer QuickSana[®] 1 Konzentration von 50% zeigten die Zellen kein Wachstum mehr. Mit steigender Konzentration von QuickSana[®] 1 nahmen Wachstum und Differenzierung der Zellen sowohl im Medium mit 2% FCS als auch im Medium mit 10% FCS ab. Dabei kam es im Medium mit 2% FCS aber erst ab einer Konzentration von 25% QuickSana[®] 1 und im Medium mit 10% FCS erst ab einer Konzentration von 50% QuickSana[®] 1 im Medium zu einem deutlichen Abfall von Zellwachstum und -differenzierung (siehe Anhang 8.1.1, Abb. 6-11). Im MTT Viabilitätstest zeigte sich ebenfalls im Medium mit 2% FCS ein deutlicher Abfall der Lebensfähigkeit der Zellen erst bei einer Konzentration von 25% QuickSana[®] 1 und im Medium mit 10% FCS bei einer Konzentration von 50% QuickSana[®] 1. Insgesamt nahm die Lebensfähigkeit der Zellen mit zunehmender Konzentration an QuickSana[®] 1 ab. Die Verlaufskurven der Lebensfähigkeit der Zellen bei steigender QuickSana[®] 1 Konzentration zeigten im Vergleich der Verwendung von Medium mit 2 oder 10% FCS keine Unterschiede (siehe Anhang 8.2.1, Graphik 2 und 8.3.1, Tab. 2,3).

Tab.4.1.2.a: Ergebnisse des MTT Zytotoxizitätstests von QuickSana[®] 1 (Übersicht)

Lebensfähigkeit der Zellen, bei steigender Konzentration an QuickSana[®] 1 mit 2 und 10% FCS im Medium (Extinktion). Aus einem repräsentativen Versuch aus drei Versuchen sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der gemessenen Extinktionen aus jeweils vier Löchern der Testplatte dargestellt.

	0%	1%	5%	10%	25%	50%
QS 1 (2% FCS)	1.02 ± 0.03	0.97 ± 0.06	0.89 ± 0.02	0.78 ± 0.07	0.46 ± 0.01	0.43 ± 0.01
QS 1 (10% FCS)	0.92 ± 0.02	0.89 ± 0.07	0.85 ± 0.05	0.86 ± 0.11	0.72 ± 0.03	0.47 ± 0.01

Tab.4.1.2.b: Lebensfähigkeit der Zellen bei steigender Konzentration an QuickSana[®] 1 im Medium, umgerechnet in Prozent, bezogen auf 0% QuickSana[®] 1

QuickSana [®] 1	0%	1%	5%	10%	25%	50%
Zellebensfähigkeit (2% FCS)	100%	95%	87%	76%	45%	42%
Zellebensfähigkeit (10% FCS)	100%	97%	92%	93%	78%	51%

Alkoholkontrolle

Unter mikroskopischer Betrachtung zeigten sowohl die Zellen im Medium mit 2% FCS als auch im Medium mit 10% FCS ohne Zugabe von Alkohol das grösste Wachstumsverhalten. Mit zunehmender Alkoholkonzentration nahm das Zellwachstum langsam ab (siehe Anhang 8.1.1, Abb. 12-17). Im MTT Viabilitätstest zeigten sich im Medium mit 2% FCS kontinuierlich abnehmende Werte der Lebensfähigkeit der Zellen mit zunehmender Konzentration an Alkohol. Im Medium mit 10% FCS nahm die Lebensfähigkeit der Zellen ab einer Konzentration von 10% Alkohol ab. Die Verlaufskurven der Lebensfähigkeit der Zellen bei steigender Alkoholkonzentration zeigten im Vergleich der Verwendung von Medium mit 2% oder 10% FCS wenig Unterschiede (siehe Anhang 8.2.1, Graphik 3 und 8.3.1, Tab. 4,5).

Tab.4.1.2c:

Ergebnisse des MTT Zytotoxizitätstests der Alkoholkontrolle (Übersicht)

Lebensfähigkeit der Zellen, bei steigender Konzentration an Alkohol mit 2 und 10% FCS im Medium (Extinktion).

Aus einem repräsentativen Versuch aus drei Versuchen sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der gemessenen Extinktionen aus jeweils vier Löchern der Testplatte dargestellt.

	0%	1%	5%	10%	25%	50%
Alkohol (2% FCS)	0.66 ± 0.06	0.61 ± 0.07	0.53 ± 0.07	0.52 ± 0.02	0.44 ± 0.02	0.31 ± 0.02
Alkohol (10% FCS)	0.55 ± 0.02	0.57 ± 0.02	0.59 ± 0.04	0.54 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.40 ± 0.01

Tab.4.1.2d: Lebensfähigkeit der Zellen bei steigender Konzentration an Alkohol im Medium, umgerechnet in Prozent, bezogen auf 0% Alkohol

Alkohol	0%	1%	5%	10%	25%	50%
Zellebensfähigkeit (2% FCS)	100%	92%	80%	79%	67%	47%
Zellebensfähigkeit (10% FCS)	100%	104%	107%	98%	89%	73%

Quick Sana[®] 2

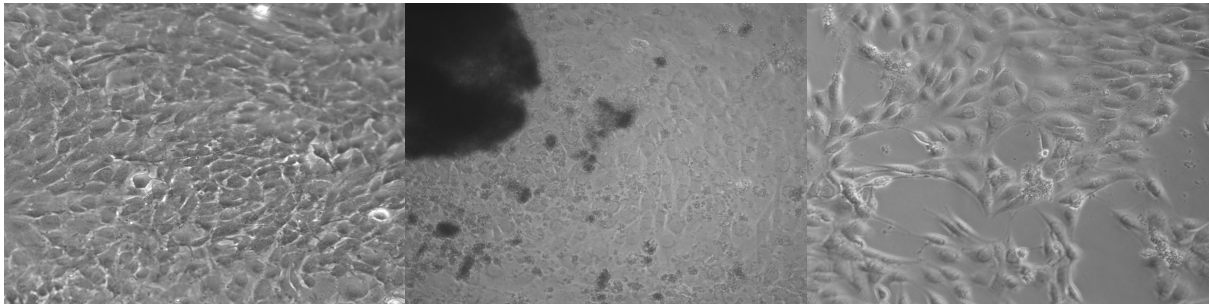
Nach 24-stündiger Inkubation mit QuickSana[®] 2 zeigten die konfluenten Zellen bezüglich Dichte, Wachstum und Morphologie keine Veränderungen zum Vortag. Nach Herausspülen der Crème blieben lediglich einige Lücken im Zellrasen zurück. Ob die Zellen in Medium mit 2 oder mit 10% FCS kultiviert wurden, machte dabei keinen Unterschied.

Abb. 4.1.2e: Ergebnisse des makroskopischen Zytotoxizitätstests von QuickSana[®] 2 (Übersicht)

Links: Konfluente Zellen

Mitte: Zellen nach 24 Stunden Inkubation mit QuickSana[®] 2 in direktem Kontakt mit QuickSana[®] 2

Rechts: Zellen nach 24 Stunden Inkubation mit QuickSana[®] 2 nach Herauswaschen von QuickSana[®] 2



4.2 In vivo Studie

4.2.1 Operation

Sowohl die Narkosen als auch die Operationen verliefen bei allen 22 Ratten ohne Komplikationen. Das Stanzen der Löcher konnte planmässig reproduzierbar durchgeführt werden und alle Tiere erwachten ohne Probleme aus der Narkose.

4.2.2 Postoperative Phase

In der postoperativen Phase ergaben sich keine besonderen Auffälligkeiten. Insgesamt vier Wunden bluteten nach, waren aber spätestens am zweiten Tag trocken. Das Allgemeinbefinden am Tag der Operation war bei einigen Tieren leicht vermindert, konnte aber am nächsten Tag im Rahmen der Gesundheitsüberwachung wieder als normal beurteilt werden. In der restlichen Zeit ergab die Kontrolle des Allgemeinbefinden, der Gliedmassenfunktion und des Gewichts keine Besonderheiten. Über den Zeitraum von drei Tagen zeigten alle Tiere einen leichten Wundschmerz. Das Spülen der Wunden sowie die Applikation der Crème wurden problemlos toleriert. Die Ratten liessen sich ausnahmslos gut handhaben und fotografieren. Im Anschluss an die jeweilige Behandlung mit einer der drei Lösungen oder der Crème wurden die Wunden von den Tieren beleckt. Alle Tiere der 28-Tage-Gruppe zeigten ab dem sechsten Tag im Bereich um die mittleren und hinteren

Wunden eine leckbedingte Reizung der Haut. In dieser Gruppe wurden auch hin und wieder die Krusten abgekratzt oder an den Wundrändern gekratzt, so dass es zu minimalen Blutungen kam. Die Wunden heilten aber ohne weitere Probleme ab. Insgesamt konnten keine erheblichen Wundkomplikationen verzeichnet werden.

4.2.3 Makroskopische Auswertung

4.2.3.1 Wundheilungsverlauf

3-Tage-Gruppe

Über den Zeitraum von drei Tagen liessen sich makroskopisch kaum Unterschiede zwischen den Wunden erkennen. Bis auf drei Wunden, die feucht blieben, waren alle ab dem zweiten Tag trocken und die Wundränder verklebten mit der Muskelschicht darunter. Bei solchen Wunden, die mit QuickSana[®] 2 und mit QuickSana[®] 1&2 behandelt wurden, waren Crèmenreste im Randbereich zu finden. Zudem erschienen die mit QuickSana[®] 2 und die mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden etwas grossflächiger und es schien sich mehr Granulationsgewebe zu bilden (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 27).

7-Tage-Gruppe

Im Verlauf der sieben Tage liessen sich zunächst die gleichen Beobachtungen anstellen wie bei der drei-Tage-Gruppe. Nach dem vierten Tag zeigten sich bei den mit QuickSana[®] 2 und mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden weiterhin mehr Bildung von Granulationsgewebe und bei den Wunden, die mit QuickSana[®] 1&2 behandelt wurden, grössere Wundflächen. Eintrocknete Crèmenreste erschwerten die Beurteilung (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 28).

28-Tage-Gruppe

Bei der 28-Tage-Gruppe zeigten sich in der ersten Woche bezüglich der mit QuickSana[®] 2 behandelten und der Negativkontrollwunden wiederum die gleichen Ereignisse wie in der sieben-Tage-Gruppe. Wunden, die mit QuickSana[®] 1, Betadine und Chlorhexidin behandelt wurden, zeigten ebenfalls eine schnellere Kontraktion der Wundränder als die mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden. Unabhängig von der Behandlung blieben Wunden im Nackenbereich länger grossflächig. Solche im Lendenbereich schlossen sich schneller, wurden aber gehäuft aufgekratzt. Ab Tag zehn kam es mehr und mehr zur Angleichung des morphologischen Erscheinungsbildes. Bis auf kleine, nicht den Behandlungsgruppen zuzuordnende Grössenunterschiede glichen sich alle Wunden über einige Tage hinweg und waren zwischen dem 14. und 18. Tag alle geschlossen. Über die letzten zehn Tage konnten

während der Narbenentwicklung Unterschiede in Grösse und Rötung der Narben verzeichnet werden. Bei mit QuickSana[®] 1&2 und mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden schienen die Narben zu verschwinden, während bei den anderen Behandlungsgruppen deutlich sichtbare, mehr oder minder gerötete Narben zu erkennen waren (siehe Anhang 8.1.2, Abb. 29).

4.2.3.2 Grössenbestimmung

7-Tage-Gruppe

Die unbehandelten Wunden hatten nach sieben Tagen die kleinsten Wundflächen. Deutlich grössere Wundflächen zeigten sich sowohl bei mit QuickSana[®] 2 als auch mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden, die sich wenig voneinander unterschieden. Die grössten Wundflächen zeigten sich bei solchen Wunden, die nur mit QuickSana[®] 1 behandelt wurden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 4, und Anhang 8.3.2, Tab. 6).

28-Tage-Gruppe

Die kleinsten Narben entwickelten sich bei Wunden, die mit QuickSana[®] 1&2 behandelt wurden, gefolgt von mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden. Deutlich grössere Narben und insgesamt die grössten Narbenflächen wiesen die Negativkontrollwunden sowie diejenigen auf, die mit Chlorhexidin behandelt wurden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 5 und Anhang 8.3.2, Tab. 7). Die Behandlungen mit Betadine und QuickSana[®] 1 resultierten in einer mittleren Narbengrösse.

Tab. 4.2.3.2: Ergebnisse der Grössenbestimmung (Übersicht); Mittelwerte und Standardabweichungen der Wundflächen am Tag 7 der 7-Tage-Gruppe und Grösse der Narben am Tag 28 der 28-Tage-Gruppe (mm²)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
Wundfläche 7d	14 ± 4	26 ± 23	19 ± 8	20 ± 8	/	/
Narbenfläche 28d	12.10 ± 5.61	11.19 ± 4.52	7.72 ± 3.07	7.06 ± 2.30	9.88 ± 3.18	12.18 ± 4.76

4.2.3.3 Beurteilung der Narben

Bei der makroskopischen Beurteilung der Einziehung der Narben der 28-Tage-Gruppe zeigte sich deutlich, dass die Narben nach Behandlung mit QuickSana® 1&2 am geringsten eingezogen waren, während die mit Chlorhexidin behandelten Wunden die am stärksten eingezogenen Narben hervorbrachten. Die restlichen vier Gruppen unterschieden sich kaum (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 7 und 8.3.2, Tab. 8). Im Fall der Beurteilung der Hautverdickung zeigte sich, dass mit QuickSana® 1&2 und mit QuickSana® 2 behandelte Wunden im Bereich des gebildeten Narbengewebes die dickste Haut aufwiesen. Insgesamt und zwischen den anderen Gruppen zeigten sich keine grossen Unterschiede (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 8 und 8.3.2, Tab. 9). Bezüglich der Sichtbarkeit ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen mit QuickSana® 1&2 und QuickSana® 2 behandelten Wunden gegenüber allen anderen Behandlungsgruppen. Beide waren signifikant weniger sichtbar als solche Narben, deren Wunden mit QuickSana® 1, Betadine oder nicht behandelt wurden ($p=0.004$), und als die Narben in der Chlorhexidin-Gruppe ($p=0.022$) (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 6 und 8.3.2, Tab. 10). Zusätzlich konnte eine positive Korrelation zwischen der Sichtbarkeit und der Einziehung der Narben ermittelt werden ($r=0.299$; $p=0.049$).

Tab.4.2.3.3: Ergebnisse der Beurteilung der Narben (Übersicht); Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 0-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1& 2	Betadine	Chlorhexidin
Sichtbarkeit	1.88 ± 0.35	1.88 ± 0.35	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.53	1.88 ± 0.64	1.75 ± 0.46
Einziehung	0.38 ± 0.52	0.38 ± 0.52	0.38 ± 0.52	0.13 ± 0.35	0.38 ± 0.52	0.63 ± 0.52
Hautfaltenprobe	0.25 ± 0.71	0.13 ± 0.35	0.63 ± 0.74	0.50 ± 0.76	0.38 ± 0.52	0.25 ± 0.46

4.2.3.4 Histologische Auswertung

Für die histologischen und die immunhistologischen Auswertungen konnten einige wenige Proben nicht herangezogen werden, weil die Schnitte beim Einbetten sich verschoben hatten und dann in der Routine falsch geschnitten wurden. Von 48 Proben der Tiere aus der drei-Tage-Gruppe waren drei Präparate für die Histologie und zwei Präparate für die Immunhistologie nicht auswertbar. Dabei handelte es sich um eine Probe aus der Behandlungsgruppe von QuickSana® 2 und eine aus der Gruppe von QuickSana® 1&2 sowie bei der Histologie zusätzlich um eine Probe aus der Gruppe von QuickSana® 1. Von den 36 Proben der Tiere aus der sieben-Tage-Gruppe konnten sechs Präparate nicht in die Auswertung eingehen. Dabei waren vier Proben von der QuickSana® 2-Gruppe, eine aus der Negativkontrollgruppe und eine aus der QuickSana® 1-Gruppe. Von den 48 Proben der Tiere aus der 28-Tage-Gruppe waren vier Präparate nicht auswertbar. Zwei stammten aus der Behandlungsgruppe mit Chlorhexidin und jeweils eine aus der Gruppe der mit QuickSana® 1 und mit QuickSana® 2 behandelten Wunden. Grund für den Ausschluss der Proben waren Zusammenhangstrennungen der wichtigen Strukturen auf den Schnitten oder eine schiefe Schnittebene, so dass die Schnitte nicht standardisiert ausgewertet werden konnten. Eine Übersicht über die auswertbaren Proben liefert Tabelle 4.2.3.4

Tabelle 4.2.3.4: Auswertbare Proben (Übersicht) der Immunhistologie und der (Histologie)

Gruppe	Proben	Auswertbare Proben	Färbung
3 Tage	n = 48	n = 46 (45)	Hämatoxilin Eosin TGF-β3 Immunhistologie
Kontrolle	n = 8	n = 8	
QS 1	n = 8	n = 8 (7)	
QS 2	n = 8	n = 7	
QS 1&2	n = 8	n = 7	
Betadine	n = 8	n = 8	
Chlorhexidin	n = 8	n = 8	
7 Tage	n = 36	n = 30	Hämatoxilin Eosin Gomoris Blue Trichrome TGF-β3 Immunhistologie Faktor 8 Immunhistologie
Kontrolle	n = 12	n = 11	
QS 1	n = 6	n = 5	
QS 2	n = 6	n = 2	
QS 1&2	n = 12	n = 12	
28 Tage	n = 48	n = 44	Hämatoxilin Eosin Gomoris Blue Trichrome TGF-β3 Immunhistologie Faktor 8 Immunhistologie
Kontrolle	n = 8	n = 8	
QS 1	n = 8	n = 7	
QS 2	n = 8	n = 7	
QS 1&2	n = 8	n = 8	
Betadine	n = 8	n = 8	
Chlorhexidin	n = 8	n = 6	

4.2.3.5 3-Tage-Gruppe

Beurteilung der Entzündung

Im Hinblick auf die Feuchtigkeit der Wundoberfläche wiesen die Negativkontrollwunden sowie die mit Betadine und Chlorhexidin behandelten Wunden die meiste Feuchtigkeit auf. Am wenigsten Feuchtigkeit zeigten die Wunden, die mit QuickSana® 2 behandelt wurden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 9 und 8.3.2, Tab. 11). Bezüglich der neutrophilen Granulozyten waren am meisten Zellen bei den Negativkontrollwunden zu finden. Ähnlich viele Entzündungszellen gab es bei den mit QuickSana® 1&2, Betadine und Chlorhexidin behandelten Wunden. Die wenigsten neutrophilen Granulozyten waren in mit QuickSana® 2 behandelten Wunden zu finden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 10 und 8.3.2, Tab. 12). Am meisten Wundödem zeigten die mit QuickSana® 1&2 behandelten Wunden, wobei die Unterschiede zu den Wunden, die mit Chlorhexidin oder QuickSana® 2 behandelt wurden, sowie zu den Negativkontrollwunden nur gering waren. Etwas weniger Ödem gab es in mit QuickSana® 1 und Betadine behandelten Wunden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 11 und 8.3.2, Tab. 13). Am meisten Hyperämie im Wundbereich zeigten Wunden, die mit Chlorhexidin behandelt wurden. Am wenigsten Hyperämie gab es bei solchen Wunden, die mit QuickSana® 1 behandelt wurden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 12 und 8.3.2, Tab. 14). Insgesamt zeigten sich bezüglich der Entzündungsreaktionen nur wenige Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen.

Tab.4.2.3.5: Ergebnisse der Beurteilung der Entzündung der 3-Tage-Gruppe (Übersicht)
Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
Feuchtigkeit der Wundoberfläche	2.00 ± 0.93	1.71 ± 0.76	1.43 ± 0.79	1.86 ± 0.69	2.00 ± 0.76	2.00 ± 0.76
Neutrophile Granulozyten	2.00 ± 0.93	1.86 ± 0.69	1.43 ± 0.53	2.00 ± 0.82	1.88 ± 0.64	1.88 ± 0.83
Ödem	2.13 ± 0.83	1.86 ± 0.90	2.14 ± 0.38	2.43 ± 0.98	1.63 ± 0.74	2.25 ± 0.71
Hyperämie	2.38 ± 0.74	2.00 ± 1.00	2.29 ± 0.76	2.14 ± 1.07	2.25 ± 0.46	2.63 ± 0.52

4.2.3.6 7-Tage-Gruppe

Beurteilung der Entzündung

Bei allen Wunden konnte die Absonderung eines serösen, leicht eitrigen Exsudats verzeichnet werden. Dabei zeigten die mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden die stärkste Exsudation. Die anderen Behandlungsgruppen zeigten alle etwas weniger Exsudat (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 13 und 8.3.2, Tab. 15). Die meisten neutrophilen Granulozyten im Granulationsgewebe wiesen die mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden auf. Ähnlich viele zeigten sich in mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden. Weniger neutrophile Granulozyten gab es hingegen in den Wunden der QuickSana[®] 1-Gruppe, die wenigsten in den Negativkontrollwunden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 14 und 8.3.2, Tab. 18). Auch Makrophagen gab es in mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden am meisten und in den Negativkontrollwunden am wenigsten (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 15 und 8.3.2, Tab. 17). Bezüglich der Lymphozyten konnten kaum Unterschiede zwischen den Wunden der QuickSana[®] 1, QuickSana[®] 2 und Kontrollgruppen festgestellt werden. Am meisten Lymphozyten waren im Granulationsgewebe von mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden zu finden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 16 und 8.3.2, Tab. 16).

Tab.4.2.3.6a: Ergebnisse der Beurteilung der Entzündung der 7-Tage-Gruppe (Übersicht)
Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
Exsudation	2.09 ± 0.94	2.00 ± 1.00	2.00 ± 1.41	2.67 ± 0.65
Neutrophile Granulozyten	2.00 ± 1.00	2.20 ± 1.10	3.00 ± 0.00	2.33 ± 0.78
Makrophagen	2.27 ± 0.90	2.80 ± 0.45	3.00 ± 0.00	2.67 ± 0.49
Lymphozyten	2.09 ± 0.70	2.00 ± 1.00	2.00 ± 0.00	2.33 ± 0.78

Fläche an neuem Epithel

Mit QuickSana[®] 1&2 behandelte Wunden hatten insgesamt die grösste Fläche an neuem Epithel gebildet, gefolgt von mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden. Die unbehandelten Negativkontrollwunden waren am wenigsten mit neuem Epithel bedeckt (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 17 und 8.3.2, Tab. 19).

Dicke des neuen Bindegewebes (Granulationsgewebe)

Die Dicke des Granulationsgewebes zeigte sich bei allen Behandlungsgruppen ähnlich. Die dickste Granulationsgewebsschicht konnte bei solchen Wunden gemessen werden, die mit QuickSana[®] 1 behandelt wurden. Wunden der Kontrollgruppe wiesen im Mittel die

dünnste Schicht an Granulationsgewebe auf (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 18 und 8.3.2, Tab. 20).

Tab.4.2.3.6b: Ergebnisse der Messung der Fläche an neuem Epithel und der Dicke des Granulationsgewebes der 7-Tage-Gruppe (Übersicht), Mittelwerte und Standardabweichungen (mm², mm)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
Neue Epithelfläche (mm²)	0.17 ± 0.16	0.24 ± 0.19	0.28 ± 0.10	0.31 ± 0.19
Granulationsgewebstdicke (mm)	0.0018 ± 0.0008	0.0027 ± 0.001	0.0025 ± 0.001	0.0024 ± 0.0007

Menge und Qualität des neuen Bindegewebes

Im mittleren Ausschnitt der Wunden zeigten sich sowohl hinsichtlich der Menge als auch der Qualität des neuen Bindegewebes keine grossen Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen. Einen leicht höheren Score erzielte jeweils die Behandlungsgruppe von QuickSana[®] 2. Gleiches galt auch für das Bindegewebe im linken und im rechten Wundbereich (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 19, 20 und 8.3.2, Tab. 21-24). Betrachtete man alle Ausschnitte gemeinsam, zeigten sich zwischen den Behandlungsgruppen bezüglich Menge und Qualität des neuen Bindegewebes ebenfalls keine grossen Unterschiede (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 21, 22 und 8.3.2, Tab. 25).

Tab.4.2.3.6c: Ergebnisse der Menge und Qualität des neuen Bindegewebes der 7-Tage-Gruppe (Übersicht) Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3, siehe Seite 26)

<i>Neues Bindegewebe</i>		Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
Menge	Mitte	1.91 ± 0.70	1.8 ± 0.45	2.5 ± 0.71	2.00 ± 0.60
	Links	1.91 ± 0.54	2 ± 0.71	2.5 ± 0.71	1.75 ± 0.62
	Rechts	2.09 ± 0.70	1.6 ± 0.55	1.5 ± 0.71	1.75 ± 0.62
Qualität	Mitte	1.64 ± 0.67	1.80 ± 0.84	2.00 ± 0.00	1.92 ± 0.51
	Links	1.64 ± 0.67	2.00 ± 1.00	2.00 ± 1.41	1.83 ± 0.58
	Rechts	1.73 ± 0.65	1.60 ± 0.55	1.50 ± 0.71	1.75 ± 0.62

Tab.4.2.3.6d: Ergebnisse der Menge und Qualität insgesamt des neuen Bindegewebes der 7-Tage-Gruppe (Übersicht) Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

<i>Neues Bindegewebe</i>	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
Menge Insgesamt	1.97 ± 0.64	1.80 ± 0.56	2.17 ± 0.75	1.83 ± 0.61
Qualität Insgesamt	1.67 ± 0.65	1.80 ± 0.77	1.83 ± 0.75	1.83 ± 0.56

4.2.3.7 28-Tage-Gruppe

Dicke des neuen Epithels

Das dickste Epithel wiesen solche Wunden auf, die mit QuickSana[®] 1&2 behandelt wurden. Ähnlich dickes Epithel zeigte sich bei Wunden der Behandlungsgruppen von QuickSana[®] 1 und QuickSana[®] 2. Bedeutend weniger Epitheldicke wiesen die Wunden der Negativkontrollgruppe und die Wunden, die mit Betadine und Chlorhexidin behandelt wurden, auf (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 23 und 8.3.2, Tab. 26).

Dicke des neuen Bindegewebes

Im Verhältnis zu der angrenzenden, gesunden Haut erreichte das Bindegewebe der Narben aller Behandlungsgruppen circa 80% des ursprünglichen Hautniveaus. Etwas geringer war der Anteil an neuem Bindegewebe der Wunden aus der Behandlungsgruppe von QuickSana[®] 1 (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 24 und 8.3.2, Tab. 27).

Tab.4.2.3.7a: Ergebnisse der Messungen der Dicke des neuen Epithels (mm) und der Dicke des neuen Bindegewebes (Verhältnis in % zur umliegenden gesunden Haut) der 28-Tage-Gruppe (Übersicht); Mittelwerte und Standardabweichungen

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
Dicke des neuen Epithels (mm)	0.041 ± 0.017	0.056 ± 0.027	0.053 ± 0.012	0.059 ± 0.014	0.037 ± 0.007	0.045 ± 0.015
Dicke des neuen Bindegewebes (%)	81.94 ± 10.87	62.76 ± 15.24	83.06 ± 10.84	77.16 ± 15.25	78.83 ± 14.84	80.73 ± 15.85

Menge und Qualität des neuen Bindegewebes

Alle Ausschnitte mit neuem Bindegewebe wiesen bezüglich Menge und Qualität des Bindegewebes keine besonderen Gruppenunterschiede auf. Nur im oberen Ausschnitt liess sich die Tendenz erkennen, dass die Negativkontrollwunden gegenüber mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden eine bessere Bindegewebsqualität zeigten ($p=0.089$) (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 25, 26 und 8.3.2, Tab. 28-35). Vergleicht man die Menge an neuem Bindegewebe aller Ausschnitte zusammen, so war diese bei der Negativkontrollgruppe signifikant höher als bei mit QuickSana[®] 2 ($p=0.005$) und mit QuickSana[®] 1&2 ($p=0.018$) behandelten Wunden. Auch bei mit Betadine behandelten Wunden war die Bindegewebsmenge signifikant höher gegenüber den mit QuickSana[®] 2 ($p=0.005$) und QuickSana[®] 1&2 ($p=0.018$) behandelten Wunden (siehe Anhang 8.2.2, Graphik 27 und 8.3.2, Tab. 36). Bezüglich der Qualität des Bindegewebes aller Ausschnitte zusammen ergab sich ebenso ein signifikant höherer Score für die Negativkontrollgruppe gegenüber QuickSana[®] 2 ($p=0.024$) und auch für Betadine gegenüber QuickSana[®] 2 ($p=0.00$) (Anhang 8.2.2, Graphik 28 und 8.3.2, Tab. 37).

Tab.4.2.3.7b: Ergebnisse der Menge und Qualität des neuen Bindegewebes der 28-Tage-Gruppe (Übersicht)
Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3, siehe Seite 26)

<i>Neues Bindegewebe</i>		Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
Menge	Oben	2.13 ± 0.35	1.71 ± 0.49	1.50 ± 0.53	1.86 ± 0.69	1.88 ± 0.35	1.83 ± 0.41
	Unten	2.13 ± 0.83	1.86 ± 0.69	1.50 ± 0.76	1.43 ± 0.53	2.38 ± 0.52	1.83 ± 0.41
	Links	2.38 ± 0.52	2.00 ± 0.58	1.88 ± 0.64	1.86 ± 0.38	2.38 ± 0.52	2.00 ± 0.00
	Rechts	2.25 ± 0.46	2.14 ± 0.38	2.00 ± 0.76	1.86 ± 0.69	2.25 ± 0.46	1.83 ± 0.41
Qualität	Oben	2.25 ± 0.46	2.14 ± 0.38	1.75 ± 0.71	2.14 ± 0.38	2.50 ± 0.53	2.33 ± 0.52
	Unten	2.13 ± 0.64	2.00 ± 0.58	1.88 ± 0.64	2.29 ± 0.49	2.50 ± 0.53	1.83 ± 0.41
	Links	2.50 ± 0.53	2.43 ± 0.53	2.00 ± 0.76	2.29 ± 0.49	2.50 ± 0.53	2.17 ± 0.41
	Rechts	2.50 ± 0.53	2.57 ± 0.53	2.00 ± 0.76	2.43 ± 0.53	2.63 ± 0.52	2.33 ± 0.52

Tab.4.2.3.7c: Ergebnisse der Menge und Qualität des neuen Bindegewebes insgesamt der 28-Tage-Gruppe (Übersicht)
Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

<i>Neues Bindegewebe</i>	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
Menge Insgesamt	2.22 ± 0.55	1.93 ± 0.54	1.72 ± 0.68	1.75 ± 0.59	2.22 ± 0.49	1.88 ± 0.34
Qualität Insgesamt	2.34 ± 0.55	2.29 ± 0.53	1.91 ± 0.69	2.29 ± 0.46	2.53 ± 0.51	2.17 ± 0.48

4.2.4 Immunhistologische Auswertung

4.2.4.1 3-Tage-Gruppe

TGF-β3-Immunhistologie

Am meisten TGF-β3 wurde in den Wunden gebildet, die mit QuickSana[®] 2 oder mit QuickSana[®] 1&2 behandelt wurden. Am geringsten fiel der Score bei den Negativkontrollen aus (Anhang 8.2.2, Graphik 29 und 8.3.2, Tab. 38).

Tab.4.2.4.1: Ergebnisse der TGF-β3 Expression der 3-Tage-Gruppe (Übersicht)
Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
TGF-β3	1.75 ± 0.89	2.13 ± 0.64	2.29 ± 0.49	2.29 ± 0.95	1.88 ± 0.35	2.25 ± 0.71

4.2.4.2 7-Tage-Gruppe

TGF-β3-Immunhistologie

Am meisten TGF-β3 wurde in den Bereichen des neuen Epithels gebildet. Dabei zeigten sich auf beiden Seiten der Wunde jeweils die grösste TGF-β3-Konzentration und -Intensität bei den mit QuickSana[®] 2 behandelten Wunden, gefolgt von solchen, die mit QuickSana[®] 1&2 behandelt wurden. Am wenigsten TGF-β3 wurde jeweils im Epithel der Negativkontrollwunden gebildet. Im Granulationsgewebe wurde die stärkste TGF-β3-Expression bei mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden ermittelt, gefolgt von mit QuickSana[®] 2 und mit QuickSana[®] 1 behandelten Wunden. Die Negativkontrollwunden zeigten wieder die geringste Menge und Intensität von TGF-β3 (Anhang 8.2.2, Graphik 30 und 8.3.2, Tab. 39-40). Es konnte eine positive Korrelation zwischen der Menge an TGF-β3 beiderseits im neuen Epithel und der Fläche an neuem Epithel verzeichnet werden ($r=0.491$; $p=0.011$ und $r=0.454$; $p=0.020$).

Tab.4.2.4.2a: Ergebnisse der TGF-β3-Expression der 7-Tage-Gruppe (Übersicht)
Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
Epithel links	2.22 ± 0.83	2.67 ± 0.58	3.00 ± 0.00	2.42 ± 0.90
Granulationsgewebe	1.36 ± 0.50	1.80 ± 0.45	2.00 ± 1.41	2.08 ± 0.79
Epithel rechts	2.00 ± 0.87	2.20 ± 0.84	3.00 ± 0.00	2.40 ± 0.84

Faktor 8-Immunhistologie

Bezüglich der Anzahl an Gefässen zeigten sich im unteren Bereich des Granulationsgewebes signifikant mehr Gefässe in mit QuickSana[®] 1&2 ($p=0.03$) und mit QuickSana[®] 1 ($p=0.047$) behandelten Wunden als in den Negativkontrollwunden. Im oberen Bereich des Granulationsgewebes war die grösste Anzahl an Gefässen in mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden vorhanden. Insgesamt konnten aber keine grossen Unterschiede festgestellt werden (Anhang 8.2.2, Graphik 32 und 8.3.2, Tab. 42).

Tab.4.2.4.2b: Ergebnisse der Gefässanzahl im Granulationsgewebe der 7-Tage-Gruppe (Übersicht)
Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
Gefässanzahl oberer Bereich	2.00 ± 0.63	1.60 ± 0.89	2.00 ± 0.00	2.25 ± 0.62
Gefässanzahl unterer Bereich	1.27 ± 0.47	2.20 ± 0.84	2.00 ± 0.00	2.25 ± 0.62

4.2.4.3 28-Tage-Gruppe

TGF- β 3-Immunhistologie

Nach 28 Tagen konnte die stärkste Expression von TGF- β 3 in mit QuickSana[®] 1 behandelten Wunden gesehen werden, deren Scores mit Tendenz ($p=0.91$) über denen der Negativkontrollgruppe lagen. Am zweit- und drittmeisten TGF- β 3 wurde in mit QuickSana[®] 2 und mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden gebildet. Die Unterschiede zu solchen Wunden, die mit Betadine oder Chlorhexidin behandelt wurden, waren jedoch gering (Anhang 8.2.2, Graphik 31 und 8.3.2, Tab. 41). Die Menge an TGF- β 3 korrelierte stark positiv mit der Dicke der neuen Epithelschicht ($r=0.451$; $p=0.002$).

Tab.4.2.4.3a: Ergebnisse der TGF- β 3-Expression der 28-Tage-Gruppe (Übersicht) Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
TGF-β3	1.00 \pm 0.00	1.71 \pm 0.76	1.50 \pm 0.53	1.29 \pm 0.49	1.13 \pm 0.35	1.17 \pm 0.41

Faktor 8-Immunhistologie

Der obere Bereich der Narbe enthielt generell eine grössere Anzahl an Gefässen. Am meisten Gefässe waren sowohl im oberen als auch im unteren Bereich des Bindegewebes in den Narben der mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden zu finden. Insgesamt waren die Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen sehr gering (Anhang 8.2.2, Graphik 33 und 8.3.2, Tab. 43, 44).

Tab.4.2.4.3b: Ergebnisse der Gefässmenge im Bindegewebe der 28-Tage-Gruppe (Übersicht) Mittelwerte und Standardabweichungen (Score 1-3)

	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
Gefässmenge oberer Bereich	1.88 \pm 0.64	2.00 \pm 0.58	2.13 \pm 0.64	2.43 \pm 0.53	1.88 \pm 0.64	2.00 \pm 0.89
Gefässmenge unterer Bereich	1.13 \pm 0.35	1.57 \pm 0.53	1.38 \pm 0.52	1.71 \pm 0.49	1.25 \pm 0.46	1.17 \pm 0.41

5 Diskussion

Ziel dieser Studie war es, das Produkt QuickSana[®] hinsichtlich seiner Wirkung auf die Wundheilung zu untersuchen. Dabei wurde anhand von standardisierten Wunden auf dem Rücken von Ratten untersucht, ob und welche Effekte im Verlauf der Wundheilung und im Bezug auf die Narbenbildung auftraten. Zum Vergleich dienten unbehandelte Wunden als Negativkontrollen sowie mit Betadine- und Chlorhexidinlösung behandelte Wunden als Positivkontrollen. Durch makroskopische, histologische und immunhistologische Auswertungen konnte gezeigt werden, dass sowohl die QuickSana[®]-Lösung als auch die QuickSana[®]-Crème positiven Einfluss auf die Wundheilung nehmen. Mit QuickSana[®] behandelte Wunden zeigten zu allen Zeitpunkten eine höhere Expression des Zytokins TGF- β 3 als die Wunden der Positiv- und Negativkontrollen. Nach sieben Tagen waren die Wunden weniger kontrahiert und hatten eine grössere Fläche an neuem Epithel gebildet als die Negativkontrollen. Unter der Behandlung mit QuickSana[®] bildeten sich zudem weniger eingezogene und deutlich weniger sichtbare Narben als bei den Positiv- und Negativkontrollen.

5.1 *In vitro* Studie

Fibroblasten werden standardmässig in Nährmedium mit 10% FCS kultiviert ^{9,21}. Die abnehmende Lebensfähigkeit der Zellen bei Reduktion der FCS-Konzentration im Medium zeigte die Abhängigkeit der Fibroblasten von den Nährstoffen im Kälberserum. Ohne FCS und bei einer Konzentration von nur 1% FCS im Medium waren die Zellen nicht lebensfähig. Mit 2% FCS konnte ein normales Zellwachstum beobachtet werden, so dass diese Konzentration an FCS als Minimalkonzentration anzusehen war, welche die Zellen zum Leben benötigten. Positive und negative Effekte von Substanzen können bei Zellen, die an ihrer Erhaltungsgrenze kultiviert werden, oft deutlicher sichtbar werden. In dieser Studie gab es allerdings bei keinem der Versuche deutliche Unterschiede zwischen den Viabilitätskurven der mit 2% und 10% FCS kultivierten Zellen. Möglich ist, dass der Einfluss auf die Zellen insgesamt nicht ausgeprägt genug war, um Unterschiede in der Lebensfähigkeit zwischen den an der Erhaltungsgrenze und den im Standardmedium kultivierten Zellen zu sehen.

Dass die Lebensfähigkeit der Zellen mit zunehmender Konzentration an QuickSana[®] 1 abnahm, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit vor allem auf den in der Lösung enthaltenen Alkohol zurückzuführen, zumal die Alkoholkontrolle einen ähnlichen Kurvenverlauf aufwies. Allerdings können auch Effekte anderer Bestandteile von QuickSana[®] 1 nicht

ausgeschlossen werden. Aufgrund des Anwendungsgebietes von QuickSana® 1 zur Wundspülung und -Reinigung, wodurch ein reines, keimfreies Wundgebiet als Grundlage für die optimale Wundheilung geschaffen werden soll, ist eine geringe zellhemmende Wirkung aber nicht unbedingt von Nachteil. Alle Organismen müssen zunächst beseitigt werden, damit die körpereigene Zellerneuerung stattfinden kann. Auch wenn erwünschte Zellen vorerst gehemmt würden, sollte es zu keiner Gewebeschädigung kommen, da QuickSana® 1 auch nur über einen kurzen Zeitraum in unverdünntem Zustand in direktem Kontakt mit dem Wundgebiet ist. In der vorliegenden Studie konnten auch *in vivo* keine negativen Effekte von QuickSana® 1 auf Fibroblasten festgestellt werden. Dass verschiedene Antiseptika zur Wundspülung das Gewebe schädigen können, zeigten bereits Brånemark und Ekholm. Daher ist die Verwendung von möglichst niedrigen Konzentrationen sinnvoll, die aber noch einen antiseptischen Effekt haben ³. Einige Antiseptika sind sogar *in vitro* zytotoxisch und werden *in vivo* zur Wundbehandlung eingesetzt ⁵⁰. So zeigten Sanchez et al., dass die empfohlenen bakterizid wirkenden Konzentrationen von Chlorhexidin (0.05%) und Povidon-Iod (1%) *in vitro* zelltoxisch auf embryonale Hundefibroblasten wirken ⁵⁰. In einer weiteren Studie wurde gezeigt, dass dies aber keine Auswirkung auf die Wundheilung *in vivo* hat. Anstelle einer Verzögerung konnte *in vivo* hingegen eine beschleunigte Wundheilung beobachtet werden. Zwischen einer Zytotoxizität gegenüber Fibroblasten *in vitro* und den Effekten auf die Wundheilung *in vivo* muss also keine Korrelation bestehen ⁵¹.

Die Zellen, die mit QuickSana® 2 kultiviert wurden, zeigten keinerlei Veränderungen in ihrer Morphologie oder ihrem Wachstum und wuchsen auch in direkter Nachbarschaft zu der Crème, so dass ein negativer Effekt der Crème ausgeschlossen werden konnte. Die Lücken im Zellrasen nach dem Herauswaschen der Crème waren mit grosser Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen, dass die Zellen mit ausgewaschen wurden. Über die bisherigen *in vitro* Versuche hinaus wäre es in weiteren Versuchen interessant, die Wirkung der reinen Substanzen Hopfen und Wermut auf die Fibroblasten zu ermitteln.

5.2 *In vivo* Studie

5.2.1 Diskussion der Methoden

5.2.1.1 Modell der Hautwunden

Für *in vivo* Versuche über akute Wundheilung der Haut stehen verschiedene Gewebemodelle zur Verfügung: Brandwunden, oberflächliche Wunden, Schnittwunden und sogenannte excisionale Wunden, bei denen Haut entfernt wird ¹⁷. Vorteile der excisionalen Wunden sind zum einen, dass die zu untersuchende Stelle jederzeit entnommen werden und daraus Gewebe, Zellen und histologische Proben gewonnen werden können ⁸. Zum anderen ist von Vorteil, dass die wichtigsten Prozesse der Wundheilung, wie Epithelisierung, Kontraktion, Entzündung, Gefässneubildung, sowie kosmetische und funktionelle Ergebnisse ermittelt werden können. Weitere Vorteile sind die Variabilität der Lokalisation und der Form der Wunden sowie der Tierart, die individuell an die Studie anpassbar sind. Das Modell der excisionalen Wunden verfügt zudem über eine gute Reproduzierbarkeit und bietet die Möglichkeit, die Effekte von Wundaufgaben und heilenden Substanzen auf die Wundheilung zu untersuchen. Daher ist dieses Modell die häufigste Grundlage für Untersuchungen der Wundheilung ¹⁷ und stellt ein geeignetes Wundheilungsmodell für die vorliegende Studie dar. Werden dabei wie in den meisten Studien die Wunden auf dem Rücken gesetzt ¹², bietet sich Platz für mehrere Wunden, die unterschiedlich behandelt werden können. Dadurch können interne Kontrollen auf jedem Tier zur Anwendung kommen. Indem Wunden nicht behandelt werden, stellt jedes Tier seine eigene Kontrollgruppe dar. Die möglichen Nachteile der ausgeprägten Blutung, des Flüssigkeitsverlustes und der Anfälligkeit für Entzündungen sind generell gut kontrollierbar und in der vorliegenden Studie nicht aufgetreten ⁸. Das Modell der excisionalen Hautwunden hat sich also auch in dieser Studie bewährt.

5.2.1.2 Die Ratte als Tiermodell

Für das ausgewählte Modell der Hautwunden kommen verschiedene Tierarten in Frage. Dazu gehören Mäuse, Ratten, Kaninchen, Hamster und Schweine. Die meisten Wundmodelle werden an Ratten durchgeführt ^{6,17}. Im Bezug auf die Wundheilung ist der grosse Vorteil dieser Tiere, dass der Heilungsprozess verhältnismässig schnell verläuft, so dass die Studien schon nach einigen Tagen Ergebnisse zeigen ⁶. Die Morphologie der Rattenhaut hat allerdings einige Besonderheiten ³⁴. Sie ist sehr elastisch und nicht fest mit den darunterliegenden Strukturen verbunden, weshalb Ratten auch als sogenannte „loose-

skinned animals“ bezeichnet werden^{6,12}. Zudem besitzen Ratten noch einen Unterhautmuskel, den panniculus carnosus, der mittels Kontraktion und Kollagenbildung zur Wundheilung der Haut beiträgt¹⁷. Aufgrund dieser Gegebenheiten können keine exakten Vergleiche zwischen der Ratte und anderen Tierarten oder dem Menschen gezogen werden. Schweinehaut ist der des Menschen ähnlicher⁵⁹. Zu beachten ist aber die leichtere Haltung von Ratten aufgrund ihrer Grösse und guten Handhabbarkeit. Kleine Versuchstiere bedeuten immer auch weniger Kosten in der Anschaffung und im Unterhalt. Trotz ihrer geringen Grösse weist die Ratte dabei immer noch eine angemessene Fläche an Haut für die Wundheilungsversuche auf. Insofern war die Wahl der Ratte für das Wundheilungsmodell der vorliegenden, ersten Studie angebracht. Auch im Sinne des 3R-Grundsatzes „reduce, replace, refine“ nach Russel und Burch 1995⁴⁶ ist die Ratte ein geeignetes Tier für diese Studie. Der Nachteil der Ratten in diesem Versuch war, dass sie an den Wunden gekratzt und vor allem geleckt haben. Dadurch könnten die Ergebnisse beeinflusst worden sein. Da das Anlegen eines Verbandes in Verbindung mit dem Produkt QuickSana® nicht vorgesehen ist, wäre das Umbinden eines Halskragens oder die Wahl einer anderen Tierart wie zum Beispiel des Miniaturschweines bei weiteren Versuchen unbedingt anzuraten.

5.2.1.3 Operation und postoperative Phase

Der durchweg komplikationslose Verlauf der Narkosen und Operationen zeigte eine gute Planung und professionelle Durchführung. Während der anschliessenden Behandlungszeiträume von drei, sieben und 28 Tagen waren ebenfalls keine Komplikationen zu verzeichnen. Ein Problem in Hinblick auf die Ergebnisse könnte wie schon erwähnt das Ablecken der Crème durch die Ratten darstellen. Das gegenseitige Belecken der Tiere konnte durch das Aufstallen in Einzelkäfigen vermieden werden. Allerdings haben die Tiere sich auch selbst stark belecken können. Vor allem die mittleren und hinteren Wunden waren für die Ratten gut erreichbar, was durch die Hautirritationen um diese Wunden herum zu erkennen war. Dadurch konnte zum einen die Crème nicht über die geplante Zeit und in der gewünschten Menge auf den Wunden verbleiben und zum anderen unterlagen diese Wunden durch das häufige Eincrèmen auch der häufigsten Reizung durch Lecken. Ausserdem ist nicht auszuschliessen, dass eine der aufgetragenen Substanzen durch das Lecken in eine andere Wunde gelangt sein könnte.

Die Schablone zur Bestimmung der Wundgrösse, die in der sieben-Tage-Gruppe täglich auf den Rücken gelegt wurde, war schwierig zu benutzen. Die Tiere liessen sich nicht lange genug fixieren, um die Schablone exakt aufzulegen.

Weiterhin verzogen sich die Wunden durch eine Krümmung des Rückens, so dass ein Ausmessen anhand der Millimeterschablone und damit eine standardisierte Messung schwer durchführbar waren. Für eine optimale Grössenbestimmung der Wundflächen zu jeder Zeit wäre eine andere Methode anzuraten. Genaue Messungen könnten erzielt werden, indem Pauspapier auf die Wunden aufgelegt und die Fläche abgepaust würde. Das Pauspapier kann dann auf Millimeterpapier gelegt und die Grenzen markiert werden. Anschliessend können die Quadrate ausgezählt und die Fläche erfasst werden ⁶⁸. Eine weitere Möglichkeit wäre die Ratten in eine kurze Isoflurannarkose zu legen. Dies wäre aber jedesmal mit einem erhöhten Gesundheitsrisiko für die Tiere verbunden.

5.2.1.4 Untersuchungszeitraum und Behandlungsgruppen

Der Untersuchungszeitraum von sieben Tagen wurde gewählt, um in einem ersten Versuch zu untersuchen, ob QuickSana[®] überhaupt einen Effekt auf die Wundheilung zeigte. Daher wurden in dieser Gruppe die QuickSana[®]-Lösung und -Crème nur mit unbehandelten Wunden verglichen. Aufgrund der positiven Ergebnisse bezüglich der TGF- β 3 Expression und der Fläche an neuem Epithel war dieser Zeitraum gut gewählt. Die mit QuickSana[®] behandelten und die nicht behandelten Wunden zeigten am dritten Tag makroskopische Unterschiede. Daher wurde - auch im Hinblick auf die Möglichkeit, eine frühzeitig erhöhte Expression von TGF- β 3 zu zeigen - ein weiterer Behandlungszeitraum von drei Tagen gewählt. In dieser Gruppe konnten aber nur wenige Unterschiede beobachtet werden, was aber nicht auf eine ungeeignete Wahl des Zeitraumes hindeuten muss. Mögliche frühe Effekte könnten in einer Genanalyse untersucht und sichtbar gemacht werden. In dieser Gruppe sowie in der 28-Tage-Gruppe wurden weiterhin Betadine und Chlorhexidin als Positivkontrollen mit einbezogen, um einen Vergleich zu Substanzen zu erhalten, die in der Klinik häufig zur Wundversorgung eingesetzt werden. Nach 28 Tagen waren durchweg alle Wunden verheilt und Narbengewebe vorhanden. Zum Vergleich der Narben war der Zeitpunkt generell gut gewählt. Da einige Narben aber kaum noch sichtbar waren, könnte auch ein etwas früherer Zeitpunkt in Betracht gezogen werden. Die ausgewählten Zeitpunkte repräsentierten jeweils einen Tag aus einer der drei Phasen der Wundheilung, aus der Exsudations-Entzündungsphase, der Granulations-Proliferationsphase und der Remodellierungs-Reifungsphase, sodass ein guter Überblick über den gesamten Heilungsablauf gewonnen werden konnte.

5.2.1.5 Untersuchungsmethoden und Probenauswertung

Makroskopische Auswertung

Die makroskopische Untersuchung und Protokollierung der Wundheilung liess sich problemlos durchführen, bis auf eine teilweise erschwerte Wundbeurteilung aufgrund nicht vermeidbarer Crèmenreste in den Wunden. Bezüglich der Grössenbestimmung der Wundflächen der sieben-Tage-Gruppe sind die oben erwähnten Verbesserungen bezüglich der Messmethode anzuraten. Das Ausmessen der Narben der 28-Tage-Gruppe stellte keinerlei Probleme dar. Die Messschieblehre konnte am toten Tier optimal angelegt und abgelesen werden, so dass genaue Messungen erfolgen konnten. Die makroskopische Beurteilung der Narben hinsichtlich Sichtbarkeit, Einziehung und Hautverdickung erfolgte mittels eines qualitativen vierstufigen Scoresystems, welches von allen drei bewertenden Personen gut nachvollzogen werden konnte und leicht anzuwenden sowie auszuwerten war. Daher stellt dieses System eine gute Methode zur Bewertung dieser qualitativen Parameter dar.

Histologische Auswertung

Die Bereiche der Rückenhaut, welche die Defekte enthielten, konnten bei allen Tieren unversehrt herausgeschnitten werden. Die Aufbereitung der Proben für die Histologie stellte für das Labor keinerlei Probleme dar, da es sich um eine standardisierte Methode handelt. Lediglich das Einbetten der Proben in Paraffin war eine Herausforderung. Die Hautschnitte mit den Wundhälften mussten sorgfältig aufgestellt werden, damit auf den Schnitten sowohl der Defekt als auch jeweils seitlich davon gesunde, intakte Hautbereiche in der richtigen Ebene abgebildet waren. Daher war es angebracht, die Hautschnitte von Hand einzubetten. Auch das Schneiden der Blöcke erforderte ein Herantasten an die richtige Schnittstelle in der Tiefe des Blocks, so dass ein standardisierter Bereich aus der ungefähren Mitte des Defektes gewonnen werden konnte, der alle Strukturen darstellte.

Die ausgewählten Untersuchungen wie die Beurteilung der Entzündung, der Epithelisierung und des Granulations- beziehungsweise Bindegewebes werden standardmässig und unter Zuhilfenahme der beiden Färbungen Hämatoxylin-Eosin sowie Gomoris Blue Trichrome bei der Beurteilung der Wundheilung analysiert^{17,24,29,31,48,54,68}. Demnach sind in der vorliegenden Studie die wichtigsten Untersuchungen hinsichtlich Qualität und Ablauf der Wundheilung durchgeführt worden.

Immunhistologische Auswertung

Für die immunhistologischen Präparate wurden die gleichen Blöcke mit den genannten Schwierigkeiten angefertigt und anschliessend immunhistologisch gefärbt. Sowohl die TGF- β 3-Färbungen als auch die Faktor 8-Färbungen verliefen erfolgreich, was durch Positiv- und Negativkontrollen bestätigt wurde.

Für die zahlreichen Vorgänge im Verlauf der Wundheilung stehen viele Indikatoren zur Verfügung, mit denen der Heilungsprozess qualitativ und quantitativ analysiert werden kann. Diverse Zytokine, Zytokeratine, Chemokine, Laminine und Wachstumsfaktoren sind an Entzündung, Gefässneubildung und diversen anderen Heilungsvorgängen beteiligt und können immunhistologisch untersucht werden^{13,23,26,30}. Da es sich bei TGF- β 3 um ein Zytokin handelt, das auf mehrere bedeutende Vorgänge wie Epithelisierung, Bindegewebeentstehung, Gefässneubildung und vor allem Narbenentstehung Einfluss nimmt, können durch die Untersuchung von TGF- β 3 gleichzeitig mehrere Aussagen über den Heilungsverlauf getroffen werden. Daher ist in der vorliegenden Studie die Expression von TGF- β 3 auf Proteinebene mittels Immunhistochemie ermittelt worden. Für eine exaktere quantitative Ermittlung der Expression, zur Bestimmung feiner abgestufter Gruppenunterschiede, wäre zusätzlich eine Genanalyse von TGF- β 3 möglich gewesen. Als Antagonisten von TGF- β 3 und ebenfalls wichtige Indikatoren der Wundheilungsvorgänge wäre es empfehlenswert, in Folgeversuchen auch TGF- β 1 und TGF- β 2 immunhistologisch und durch Genanalyse zu untersuchen.

Die immunhistologische Färbung bezüglich des Faktors 8 ist als eine Hilfestellung im Rahmen der Untersuchung der Gefässmenge zu betrachten. Kann Faktor 8, der im Endothel von Gefässen vorkommt, mittels positiver Immunreaktion dargestellt werden, so handelt es sich mit Sicherheit bei der betreffenden Struktur um einen Gefässanschnitt.

Um genauere Aussagen über die Kontraktion, und vor allem der Narbenkontraktion treffen zu können, wäre es ratsam, zusätzlich eine immunhistologische Untersuchung des glattmuskulären Aktins α -SMA durchzuführen, das in den Myofibroblasten gebildet wird. Da eine positive Korrelation zwischen α -SMA und der Kontraktion der Narben besteht⁶⁵, könnte so ein Zusammenhang mit der makroskopischen Beurteilung der Einziehung der Narben in dieser Studie hergestellt werden. Vor allem in Verbindung mit der ebenfalls angeratenen Untersuchung hinsichtlich TGF- β 1 (fördert die Differenzierung zu Myofibroblasten¹⁰) und in Anbetracht der vorliegenden Ergebnisse bezüglich der TGF- β 3-Expression (wirkt einer Kontraktion entgegen) ist eine Untersuchung auf α -SMA ratsam.

5.2.2 Diskussion der Ergebnisse

Sowohl bei der drei-, als auch bei der sieben-Tage-Gruppe zeigten sich hinsichtlich einer Entzündungsreaktion keine deutlichen positiven oder negativen Einflüsse durch eine der Behandlungen auf die Wunden, sowie kaum Unterschiede bezüglich der untersuchten Parameter. Insofern scheint der Ablauf der Entzündung durch keine der verschiedenen Behandlungen im Vergleich zu den Negativkontrollwunden deutlich beeinflusst zu werden. Die immunhistologische Bestimmung von TGF- β 3 stellt in dieser Studie das Hauptkriterium zur Beurteilung der Wundheilung und Narbenentstehung dar. Die zu allen Zeitpunkten erhöhte Expression dieses Zytokins in mit QuickSana[®] behandelten Wunden gegenüber allen anderen Behandlungsgruppen zeigt, dass TGF- β 3 auf Proteinebene durch QuickSana[®] hochreguliert wird.

Die stärksten immunhistologischen Reaktionen zeigten sich in der sieben-Tage-Gruppe in dem neuen Epithel, das sich über den Defekt schiebt. Dies wurde auch in anderen Studien beobachtet und bestätigt den Einfluss von TGF- β 3 auf das Einwandern von Keratinozyten²⁸. Dies erklärt auch die vergleichsweise niedrigeren Scorewerte nach drei Tagen, da zu diesem frühen Zeitpunkt noch kaum migrierende Epithelzellen dargestellt werden konnten. Den wichtigsten Effekt bezüglich der Vermeidung zellreicher, vergrößerter Narben übt TGF- β 3 zwischen dem siebten und zehnten Tag auf Fibroblasten aus, die sich zu dieser Zeit in ihrer Hochphase der Teilung und Einwanderung befinden³¹. Auch in dieser Studie konnte eine intensive Immunreaktion der Fibroblasten auf TGF- β 3 nach sieben Tagen und deutlich kleinere sowie weniger sichtbare Narben nach 28 Tagen beobachtet werden. Dies bedeutet, dass eine Hochregulation von TGF- β 3 zu einer verringerten Narbenbildung geführt hat. Die geringeren Konzentrationen von TGF- β 3 nach 28 Tagen bei allen Behandlungsgruppen zeigen, dass die Expression im Verlauf der Wundheilung wieder abnimmt. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt ist jedoch die Expression von TGF- β 3 in mit QuickSana[®] behandelten Wunden höher gewesen als bei den anderen Gruppen, so dass ein direkter Zusammenhang zwischen QuickSana[®] und der Konzentration von TGF- β 3 offensichtlich ist.

Die sichtbaren Grössenunterschiede der Wunden nach sieben Tagen konnten durch die Wundflächenmessungen objektiv bestätigt werden. Die Negativkontrollwunden wiesen kleinere Flächen auf, was mit grosser Wahrscheinlichkeit auf eine stärkere Kontraktion der Wunden hindeutet.

Um eine eindeutige Aussage über eine erhöhte Anzahl an Myofibroblasten treffen zu können und damit eine Kontraktion direkt nachzuweisen, müsste aber das in den

Myofibroblasten gebildete α -SMA immunhistologisch ermittelt werden. Für die Differenzierung zu Myofibroblasten ist TGF- β 1 verantwortlich ^{7,10}. TGF- β 3 wiederum reguliert als Antagonist TGF- β 1 herunter ³⁶. Dieser antagonistische Effekt bedingt sehr wahrscheinlich die geringere Kontraktion der mit QuickSana[®] 1&2 behandelten Wunden. Auch die über sieben Tage hinausgehenden, stärkeren Kontraktionen der mit QuickSana[®] 1 sowie mit Chlorhexidin und Betadine behandelten Wunden könnten auf diese Wirkung zurückgeführt werden.

Die makroskopische Beurteilung der Narben zeigte ebenfalls eine geringere Kontraktion der Narben in der QuickSana[®] Behandlungsgruppe. Dieser Effekt von QuickSana[®] lässt sich vermutlich auch auf die Hemmung von TGF- β 1 durch TGF- β 3 und der damit verbundenen geringeren Aktivität der Myofibroblasten zurückführen und müsste zur Erklärung weiter untersucht werden.

Eine narbenverringende Wirkung von TGF- β 3 konnte schon in vielen Studien gezeigt werden ^{31,40,41,54,55,63}, was den Schluss nahe legt, dass die Bildung der kleinsten Narben nach QuickSana[®] Behandlung auf die hohe TGF- β 3-Konzentrationen in diesen Narben zurückzuführen ist. Dies stimmt auch gut mit der beobachteten hohen TGF- β 3-Expression in der Teilungshochzeit der Fibroblasten an Tag sieben und dem damit verbundenen Langzeiteffekt auf das Narbengewebe ³¹ überein.

Nach einer Studie von Wang et al. über Brandwunden am Schwein waren die am stärksten kontrahierten auch immer die kleinsten Narben ⁶⁵. Dass in der vorliegenden Studie die stark eingezogenen Narben die grössten waren, lässt sich wahrscheinlich auf die positive Korrelation zwischen Einziehung und Sichtbarkeit zurückführen, da deutlich sichtbare Narben auch eine grössere ausmessbare Narbenfläche aufweisen.

Die signifikant geringere Sichtbarkeit der Narben der mit QuickSana[®] 1&2 sowie QuickSana[®] 2 behandelten Wunden gegenüber solchen, die mit Betadine und Chlorhexidin behandelten wurden, zeigte, dass die Behandlung mit QuickSana[®] ein besseres kosmetisches Ergebnis hervorbrachte. Die gefühlte Hautdicke dieser Narben konnte in der Histologie bei der Messung der Epitheldicke bestätigt werden. Eine mögliche Ursache wäre eine durch das Lecken der Tiere bedingte Hyperproliferation der Epithelzellen. Aufgrund der positiven Korrelation zwischen der Menge an TGF- β 3 und der Dicke des Epithels, ist eine Anregung der Epithelzellen durch TGF- β 3 aber wahrscheinlicher. Es ist möglich, dass das gebildete, dickere Epithel auch höhere mechanische Stabilität aufweist. Dies könnte durch eine Ermittlung der Reissfestigkeit getestet werden. Weiterhin wäre es interessant zu wissen, ob das Epithel im Anschluss wieder dünner wird.

Dies könnte mit einer Versuchsgruppe ermittelt werden, die länger als 28 Tage behandelt wird.

Der Einfluss von TGF- β 3 auf Epithelzellen zeigte sich deutlich in der Bestimmung der Fläche an neuem Epithel bei den Tieren aus der sieben-Tage-Gruppe, wobei die mit QuickSana® 1&2 behandelten Wunden die grösste Fläche an neuem Epithel und gleichzeitig die höchste Expression von TGF- β 3 aufwiesen. Zudem wurde eine positive Korrelation zwischen der TGF- β 3-Konzentration und der Fläche an neuem Epithel ermittelt. Bei den Negativkontrollwunden konnte deutlich weniger neues Epithel gemessen werden. Die schon mehrfach bestätigte Förderung der Keratinozytenmigration und Beschleunigung des Reepithelisierungsprozesses ^{5,28,33} durch TGF- β 3 konnte also auch in dieser Studie gezeigt werden.

Die Negativkontrollwunden der sieben-Tage-Gruppe hatten eine weniger dicke Granulationsgewebeschicht als die mit QuickSana® behandelten Wunden. Da TGF- β 3 stimulierend auf Fibroblasten, Kapillaren und Kollagen wirkt ^{5,28,33}, aus denen das Granulationsgewebe besteht, ist auch hier ein Zusammenhang mit der erhöhten Expression von TGF- β 3 durch QuickSana® erkennbar.

Bezüglich der Menge und der Qualität des neuen Bindegewebes nach sieben Tagen ergaben sich bei mit QuickSana® 2 behandelten Wunden höhere Werte gegenüber der Negativkontrollgruppe, was wiederum auf die Fibroblasten stimulierende Wirkung von TGF- β 3 zurückgeführt werden könnte. Nach 28 Tagen allerdings erzielte die Negativkontrollgruppe jeweils einen signifikant höheren Score, bezüglich Menge und Qualität des neuen Bindegewebes. Dies könnte durch die beschriebene Fibroblasten-regulierende Wirkung von TGF- β 3 bedingt sein, die zu einem früheren Zeitpunkt dafür gesorgt hat, dass in der Reifungsphase nicht so viel Bindegewebe produziert wurde, so dass es nicht zu einer exzessiven Narbengewebsbildung kommt. Die geringere Qualität ist damit allerdings nicht begründbar. Hier wäre es wiederum interessant, die Konzentration an TGF- β 1 ⁴⁹ zu ermitteln, welches für eine vermehrte Kollagenproduktion verantwortlich ist.

Die Förderung der Gefässneubildung von TGF- β 3 ⁵ spiegelt sich in der signifikant höheren Anzahl an Gefässen in mit QuickSana® 1&2 behandelten Wunden gegenüber den Negativkontrollwunden an Tag sieben wieder. Nach 28 Tagen waren im Bindegewebe der Narben der mit QuickSana® behandelten Wunden weiterhin mehr Gefässanschnitte vorhanden, wenn auch mit sehr geringen Unterschieden zu den anderen Behandlungsgruppen. Eigentlich sollte sich eine höhere Durchblutung des Narbengewebes

auch in einer vermehrten Rötung der Narbe widerspiegeln, was im Rahmen der Narbenbeurteilung aber nicht beobachtet werden konnte. Das zeigt, dass nicht immer eine gute Korrelation zwischen der klinischen Ausprägung der Narbe und den histologischen Veränderungen besteht ¹⁴.

5.2.3 Schlussfolgerung und Perspektiven

In der vorliegenden Studie konnte eine deutliche Wirkung von QuickSana[®] auf die Wundheilung gezeigt werden. Durch die Applikation von QuickSana[®] wurde zu allen untersuchten Zeitpunkten vermehrt TGF- β 3 gebildet und es konnte ein positiver Einfluss auf die Wundheilung und Narbenentstehung beobachtet werden. Gegenüber den Wunden der Negativkontrollen zeichneten sich die mit QuickSana[®] behandelten Wunden insbesondere durch eine erhöhte und beschleunigte Reepithelisierung sowie einer geringeren Wundkontraktion aus. Im Vergleich zu den Positiv- und Negativkontrollen resultierte die Behandlung mit QuickSana[®] weiterhin in kleineren, kaum sichtbaren Narben. Allerdings liessen sich nicht in allen Untersuchungen deutliche Unterschiede verzeichnen und nur vereinzelt signifikante Unterschiede ermitteln. Aufgrund der Gesamtheit der Ergebnisse kann QuickSana[®] als rein phytotherapeutisches Produkt jedoch als ein mindestens gleichwertiges Mittel zur Wundheilung wie Chlorhexidin und Betadine betrachtet werden. Darüber hinaus bietet QuickSana[®] durch seine zwei Darreichungsformen und dem über die Behandlungszeiträume beobachteten, durchweg guten Heilungsverlauf einen weiten Einsatzbereich in allen Phasen der Wundheilung an. Ein Schwerpunkt des therapeutischen Einsatzes von QuickSana[®] könnte vor allem in der Narbenverringerung im Hinblick auf funktionell und kosmetisch verbesserten Ergebnissen liegen.

Daher kann es als lohnenswert betrachtet werden, in Folgestudien an anderen Tierarten wie zum Beispiel dem Pferd die Ergebnisse zu reproduzieren und zu erweitern, um in der Tiermedizin und letztendlich auch der Humanmedizin im Rahmen der Wundheilungstherapie einen Beitrag zur physischen und psychischen Gesundheit von Mensch und Tier zu leisten.

6 Literaturverzeichnis

1. **Albini, A.; Dell'Eva, R.; Vene, R.; Ferrari, N.; Buhler, D. R.; Noonan, D. M.; and Fassina, G.:** Mechanisms of the antiangiogenic activity by the hop flavonoid xanthohumol: NF-kappaB and Akt as targets. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20(3): 527-9, 2006.
2. **Assoian, R. K., and Sporn, M. B.:** Type beta transforming growth factor in human platelets: release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells. *The Journal of cell biology*, 102(4): 1217-23, 1986.
3. **Branemark, P. I., and Ekholm, R.:** Tissue injury caused by wound disinfectants. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 49(1): 48-62, 1967.
4. **Cope, Z.:** The treatment of wounds through the ages. *Medical history*, 2(3): 163-74, 1958.
5. **Cox, D. A.:** Transforming growth factor-beta 3. *Cell biology international*, 19(5): 357-71, 1995.
6. **Cross, S. E.; Naylor, I. L.; Coleman, R. A.; and Teo, T. C.:** An experimental model to investigate the dynamics of wound contraction. *British journal of plastic surgery*, 48(4): 189-97, 1995.
7. **Knottenbelt, D.:** Wundversorgung in der Pferdepraxis. Edited, Urban&Fischer, 2003.
8. **Davidson, J. M.:** Animal models for wound repair. *Archives of dermatological research*, 290 Suppl: S1-11, 1998.
9. **Davis, J.:** Animal Cell Culture Essential Methods. Edited, Wiley-Blackwell, 2011.
10. **Desmouliere, A.; Chaponnier, C.; and Gabbiani, G.:** Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 13(1): 7-12, 2005.
11. **Dörfler, H.-P., and Roselt, G.:** Heilpflanzen. Edited, Ferdinand Enke Verlag, 1984.
12. **Dorsett-Martin, W. A.:** Rat models of skin wound healing: a review. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 12(6): 591-9, 2004.
13. **Eldardiri, M.; Martin, Y.; Roxburgh, J.; Lawrence-Watt, D. J.; and Sharpe, J. R.:** Wound contraction is significantly reduced by the use of microcarriers to deliver keratinocytes and fibroblasts in an in vivo pig model of skin repair and regeneration. *Tissue engineering. Part A*, 2011.
14. **Ferguson, M. W.; Whitby, D. J.; Shah, M.; Armstrong, J.; Siebert, J. W.; and Longaker, M. T.:** Scar formation: the spectral nature of fetal and adult wound repair. *Plastic and reconstructive surgery*, 97(4): 854-60, 1996.
15. **Gerhauser, C.:** Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. *European journal of cancer*, 41(13): 1941-54, 2005.
16. **Gerhauser, C.:** Broad spectrum anti-infective potential of xanthohumol from hop (*Humulus lupulus* L.) in comparison with activities of other hop constituents and xanthohumol metabolites. *Molecular nutrition & food research*, 49(9): 827-31, 2005.
17. **Gottrup, F.; Agren, M. S.; and Karlsmark, T.:** Models for use in wound healing research: a survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 8(2): 83-96, 2000.

18. **Hall, A. J.; Babish, J. G.; Darland, G. K.; Carroll, B. J.; Konda, V. R.; Lerman, R. H.; Bland, J. S.; and Tripp, M. L.:** Safety, efficacy and anti-inflammatory activity of rho iso-alpha-acids from hops. *Phytochemistry*, 69(7): 1534-47, 2008.
19. **Hansel, R.; Wohlfart, R.; and Coper, H.:** [Sedative-hypnotic compounds in the exhalation of hops, II]. *Zeitschrift für Naturforschung. Section C: Biosciences*, 35(11-12): 1096-7, 1980.
20. **Hansel, R.; Wohlfart, R.; and Schmidt, H.:** [The sedativ-hypnotic principle of hops.]. *Planta medica*, 45(8): 224-8, 1982.
21. **Helgason, C. D., and Miller, C. L.:** Basic Cell Culture Protocolls. Edited, Humana Press, 2005.
22. **Inaba, H.; Tagashira, M.; Honma, D.; Kanda, T.; Kou, Y.; Ohtake, Y.; and Amano, A.:** Identification of hop polyphenolic components which inhibit prostaglandin E2 production by gingival epithelial cells stimulated with periodontal pathogen. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 31(3): 527-30, 2008.
23. **Ishida, Y.; Kondo, T.; Kimura, A.; Matsushima, K.; and Mukaida, N.:** Absence of IL-1 receptor antagonist impaired wound healing along with aberrant NF-kappaB activation and a reciprocal suppression of TGF-beta signal pathway. *Journal of immunology*, 176(9): 5598-606, 2006.
24. **Jacobs, K. A.; Leach, D. H.; Fretz, P. B.; and Townsend, H. G. G.:** Comparative Aspects of the Healing of Excisional Wounds on the Leg and Body of Horses. *Veterinary Surgery*, 13(2): 83-90, 1984.
25. **Kolleg, Vet.:** Kompendium der Allgemeinen Veterinärchirurgie. Edited by Kramer, M., Schlütersche Verlag, 2004.
26. **Kondo, T., and Ishida, Y.:** Molecular pathology of wound healing. *Forensic science international*, 203(1-3): 93-8, 2010.
27. **Leahy, P. J., and Lawrence, W. T.:** Biologic enhancement of wound healing. *Clinics in plastic surgery*, 34(4): 659-71, 2007.
28. **Levine, J. H.; Moses, H. L.; Gold, L. I.; and Nanney, L. B.:** Spatial and temporal patterns of immunoreactive transforming growth factor beta 1, beta 2, and beta 3 during excisional wound repair. *The American journal of pathology*, 143(2): 368-80, 1993.
29. **Li, K.; Diao, Y.; Zhang, H.; Wang, S.; Zhang, Z.; Yu, B.; Huang, S.; and Yang, H.:** Tannin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound healing in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 11(1): 86, 2011.
30. **Lin, Z. Q.; Kondo, T.; Ishida, Y.; Takayasu, T.; and Mukaida, N.:** Essential involvement of IL-6 in the skin wound-healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6-deficient mice. *Journal of leukocyte biology*, 73(6): 713-21, 2003.
31. **Lu, L.; Saulis, A. S.; Liu, W. R.; Roy, N. K.; Chao, J. D.; Ledbetter, S.; and Mustoe, T. A.:** The temporal effects of anti-TGF-beta1, 2, and 3 monoclonal antibody on wound healing and hypertrophic scar formation. *Journal of the American College of Surgeons*, 201(3): 391-7, 2005.
32. **Majno, G.:** The Healing Hand-Man and Wound in the Ancient World. Edited, Harvard University Press, 1975.
33. **Martinez-Ferrer, M.; Afshar-Sherif, A. R.; Uwamariya, C.; de Crombrughe, B.; Davidson, J. M.; and Bhowmick, N. A.:** Dermal transforming growth factor-beta responsiveness mediates wound contraction and epithelial closure. *The American journal of pathology*, 176(1): 98-107, 2010.

-
34. **Marx, G., and Mou, X.:** Characterizing fibrin glue performance as modulated by heparin, aprotinin, and factor XIII. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 140(3): 152-60, 2002.
 35. **Miranda, C. L.; Stevens, J. F.; Helmrich, A.; Henderson, M. C.; Rodriguez, R. J.; Yang, Y. H.; Deinzer, M. L.; Barnes, D. W.; and Buhler, D. R.:** Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 37(4): 271-85, 1999.
 36. **Murata, H.; Zhou, L.; Ochoa, S.; Hasan, A.; Badiavas, E.; and Falanga, V.:** TGF-beta3 stimulates and regulates collagen synthesis through TGF-beta1-dependent and independent mechanisms. *The Journal of investigative dermatology*, 108(3): 258-62, 1997.
 37. **Nicoli Aldini, N.; Fini, M.; and Giardino, R.:** From Hippocrates to tissue engineering: surgical strategies in wound treatment. *World journal of surgery*, 32(9): 2114-21, 2008.
 38. **Dietz, O., und Litzke, L.-F.:** Lehrbuch der Allgemeinen Chirurgie für Tiermediziner. Edited, Enke Verlag, 2004.
 39. **O'Kane, S., and Ferguson, M. W.:** Transforming growth factor beta s and wound healing. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 29(1): 63-78, 1997.
 40. **Occleston, N. L.; Lavery, H. G.; O'Kane, S.; and Ferguson, M. W.:** Prevention and reduction of scarring in the skin by Transforming Growth Factor beta 3 (TGFbeta3): from laboratory discovery to clinical pharmaceutical. *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, 19(8): 1047-63, 2008.
 41. **Occleston, N. L.; O'Kane, S.; Goldspink, N.; and Ferguson, M. W.:** New therapeutics for the prevention and reduction of scarring. *Drug discovery today*, 13(21-22): 973-81, 2008.
 42. **Peter, F. W.; Li-Peuser, H.; Vogt, P. M.; Muehlberger, T.; Homann, H. H.; and Steinau, H. U.:** The effect of wound ointments on tissue microcirculation and leucocyte behaviour. *Clinical and experimental dermatology*, 27(1): 51-5, 2002.
 43. **Reichling, J.; Gachnian-Mirtscheva, R.; Frater-Schröder, M.; Saller, R.; Rabinovich, M. I.; and Widmaier, W.:** Heipflanzenkunde für die Veterinärpraxis. Edited, Springer Medizin Verlag, 2008.
 44. **Roberts, A. B., and Sporn, M. B.:** Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta). *Growth factors*, 8(1): 1-9, 1993.
 45. **Roenigk, R. K., and Roenigk, H. H.:** Surgical dermatology: Advances in current practice. Edited by Martin, D., 1993.
 46. **Russell, W. M. S., and Burch, R. L.:** The Principles of Humane Experimental Technique. Edited, 1959.
 47. **Rüster, D.:** Alte Chirurgie-Von der Steinzeit bis zum 19.Jahrhundert. Edited, Verlag Gesundheit, 1998.
 48. **Saatman, R. A.; Carlton, W. W.; Hubben, K.; Streett, C. S.; Tuckosh, J. R.; and DeBaecke, P. J.:** A wound healing study of chlorhexidine digluconate in guinea pigs. *Fundamental and applied toxicology : official journal of the Society of Toxicology*, 6(1): 1-6, 1986.
 49. **Sadick, H.; Herberger, A.; Riedel, K.; Bran, G.; Goessler, U.; Hoermann, K.; and Riedel, F.:** TGF-beta1 antisense therapy modulates expression of matrix metalloproteinases in keloid-derived fibroblasts. *International journal of molecular medicine*, 22(1): 55-60, 2008.
-

50. **Sanchez, I. R.; Nusbaum, K. E.; Swaim, S. F.; Hale, A. S.; Henderson, R. A.; and McGuire, J. A.:** Chlorhexidine diacetate and povidone-iodine cytotoxicity to canine embryonic fibroblasts and *Staphylococcus aureus*. *Veterinary surgery : VS*, 17(4): 182-5, 1988.
51. **Sanchez, I. R.; Swaim, S. F.; Nusbaum, K. E.; Hale, A. S.; Henderson, R. A.; and McGuire, J. A.:** Effects of chlorhexidine diacetate and povidone-iodine on wound healing in dogs. *Veterinary surgery : VS*, 17(6): 291-5, 1988.
52. **Schlathölter, M.:** Geschichte der Theorie und Praxis der Wundheilung und Wundbehandlung unter besonderer Berücksichtigung des 19. und 20. Jahrhunderts. In *Institut für Ethik, Geschichte und Theorie der Medizin*. Edited, Münster, Universitätsklinikum Münster, 2005.
53. **Shah, M.; Foreman, D. M.; and Ferguson, M. W.:** Control of scarring in adult wounds by neutralising antibody to transforming growth factor beta. *Lancet*, 339(8787): 213-4, 1992.
54. **Shah, M.; Foreman, D. M.; and Ferguson, M. W.:** Neutralisation of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 or exogenous addition of TGF-beta 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *Journal of cell science*, 108 (Pt 3): 985-1002, 1995.
55. **Shah, M.; Foreman, D. M.; and Ferguson, M. W.:** Neutralising antibody to TGF-beta 1,2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *Journal of cell science*, 107 (Pt 5): 1137-57, 1994.
56. **Sporn, M. B., and Roberts, A. B.:** The transforming growth factor-betas: past, present, and future. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 593: 1-6, 1990.
57. **Stashak T, T. C.:** Equine wound management. Edited, Iowa, Wiley-Blackwell, 2008.
58. **Stashak, T. S.; Farstvedt, E.; and Othie, A.:** Update on wound dressings: Indications and best use. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 3(2): 148-163, 2004.
59. **Sullivan, T. P.; Eaglstein, W. H.; Davis, S. C.; and Mertz, P.:** The pig as a model for human wound healing. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 9(2): 66-76, 2001.
60. **Thomsen, M.:** Historical landmarks in the treatment of burns. *British journal of plastic surgery*, 30(3): 212-7, 1977.
61. **Turner, T. D.:** Interactive dressings used in the management of human soft tissue injuries and their potential in veterinary practice. *Veterinary Dermatology*, 8: 235-242, 1997.
62. **Vermeulen, N.:** Kräuter-Enzyklopädie. Edited, Dörfler im Nebel Verlag, Eggolsheim, 2004.
63. **Waddington, S. N.; Crossley, R.; Sheard, V.; Howe, S. J.; Buckley, S. M.; Coughlan, L.; Gilham, D. E.; Hawkins, R. E.; and McKay, T. R.:** Gene delivery of a mutant TGFbeta3 reduces markers of scar tissue formation after cutaneous wounding. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 18(12): 2104-11, 2010.
64. **Wang, Q.; Ding, Z. H.; Liu, J. K.; and Zheng, Y. T.:** Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from Hops *Humulus lupulus*. *Antiviral research*, 64(3): 189-94, 2004.
65. **Wang, X. Q.; Kravchuk, O.; Winterford, C.; and Kimble, R. M.:** The correlation of in vivo burn scar contraction with the level of alpha-smooth muscle actin expression. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 2011.

66. **Weidinger, H.-J.:** Heilkräuter- Anbauen, Sammeln, Nützen, Schützen. Edited, Fritz Molden Verlag, Wien München Zürich New York, 1981.
67. **Wink, M.; Van Wyk, B.-E.; and Wink, C.:** Handbuch der giftigen und psychoaktiven Pflanzen. Edited, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2008.
68. **Zohdi, R. M.; Zakaria, Z. A.; Yusof, N.; Mustapha, N. M.; and Abdullah, M. N.:** Sea cucumber (*Stichopus hermannii*) based hydrogel to treat burn wounds in rats. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 98(1): 30-7, 2011.

7 Abkürzungsverzeichnis

α -SMA	α -smooth muscle actin = glattmuskuläres Aktin
Abb.	Abbildung
β	beta
DMSO	Dimethylsulfoxid
FCS	Fetales Kälberserum
GT	Gomoris Blue Trichrome
HE	Hämatoxilin Eosin
HL	Hinten links
HR	Hinten rechts
KGW	Körpergewicht
li.	links
mi.	mitte
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
MTT	Methylthiazoltetrazoliumbromid
ML	Mitte links
MR	Mitte rechts
n.a.	nicht auswertbar
PMN	Polymorphonukleäre Zellen
QS	QuickSana [®]
re.	rechts
Tab.	Tabelle
TGF	Transforming growth Faktor
VL	Vorne links
VR	Vorne rechts
W1	Wunde 1, vorne links
W2	Wunde 2, vorne rechts
W3	Wunde 3, mitte links
W4	Wunde 4, mitte rechts
W5	Wunde 5, hinten links
W6	Wunde 6, hinten rechts

8 Anhang

8.1 Abbildungen

8.1.1 *In vitro* Studie

FCS Konzentrationsbestimmung



Abb. 1:
FCS Konzentrationsbestimmung
Fibroblasten in Zellkulturmedium ohne FCS
(Objektiv 10x)

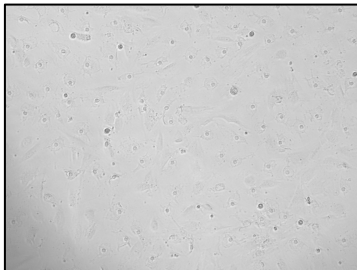


Abb. 2:
FCS Konzentrationsbestimmung
Fibroblasten in Zellkulturmedium mit 1% FCS
(Objektiv 10x)

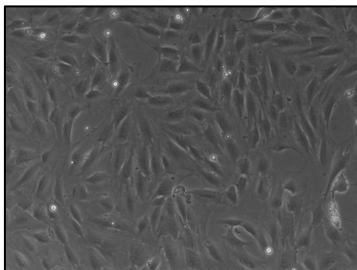


Abb. 3:
FCS Konzentrationsbestimmung
Fibroblasten in Zellkulturmedium mit 2% FCS
(Objektiv 10x)

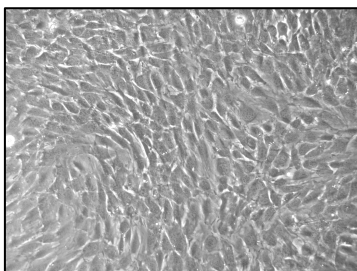


Abb. 4:
FCS Konzentrationsbestimmung
Fibroblasten in Zellkulturmedium mit 5% FCS
(Objektiv 10x)

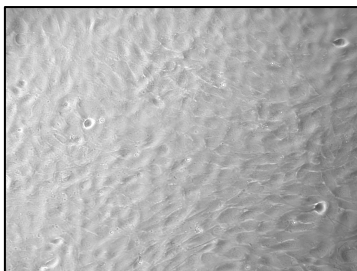


Abb. 5:
FCS Konzentrationsbestimmung
Fibroblasten in Zellkulturmedium mit 10% FCS
(Objektiv 10x)

Zytotoxizitätstest von QuickSana® 1

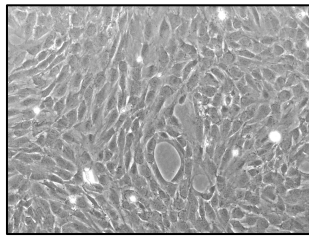
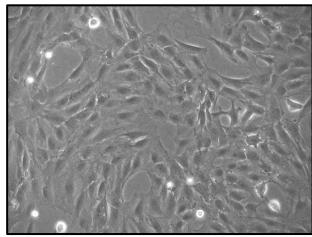


Abb. 6:
Fibroblasten ohne QuickSana® 1
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

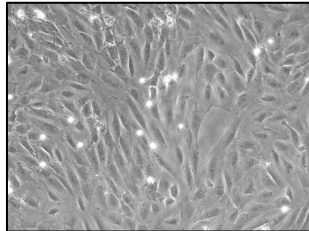
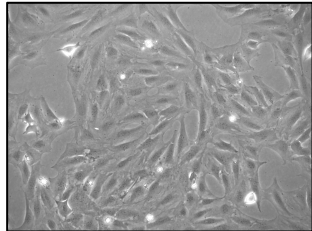


Abb. 7:
Fibroblasten mit 1% QuickSana® 1
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

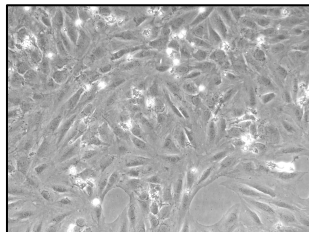
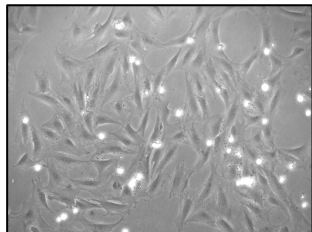


Abb. 8:
Fibroblasten mit 5% QuickSana® 1
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

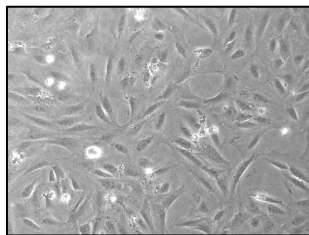
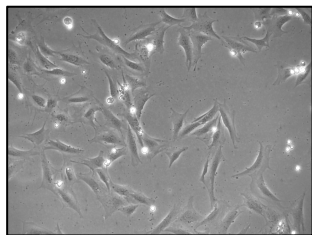


Abb. 9:
Fibroblasten mit 10 % QuickSana® 1
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

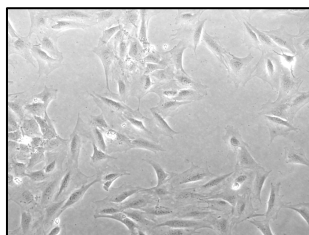


Abb. 10:
Fibroblasten mit 25% QuickSana® 1
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

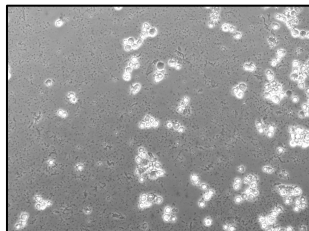
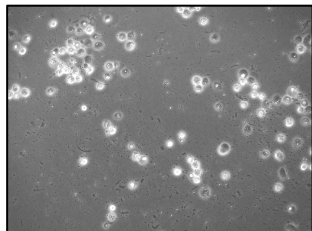


Abb. 11:
Fibroblasten mit 50% QuickSana® 1
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

Zytotoxizitätstest von Alkohol als Kontrolle

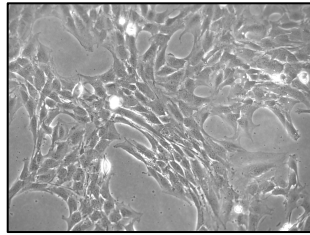
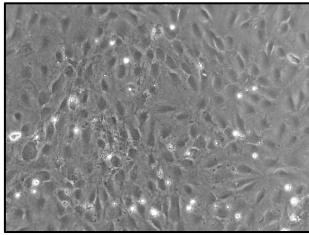


Abb. 12:
Fibroblasten ohne Alkohol
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

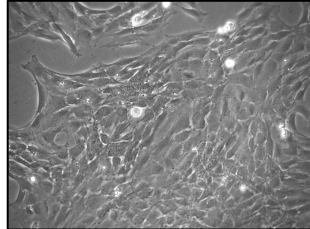
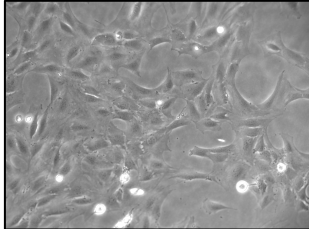


Abb. 13
Fibroblasten mit 1% Alkohol
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

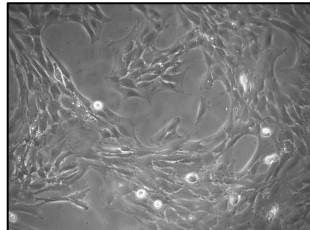
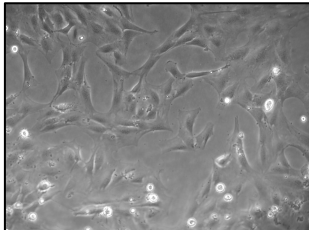


Abb. 14:
Fibroblasten mit 5% Alkohol
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

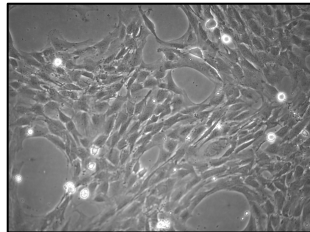
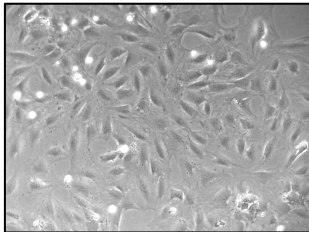


Abb. 15:
Fibroblasten mit 10% Alkohol
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

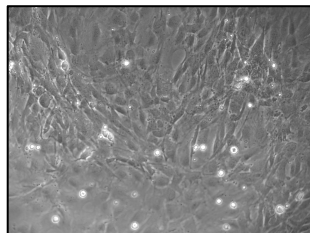
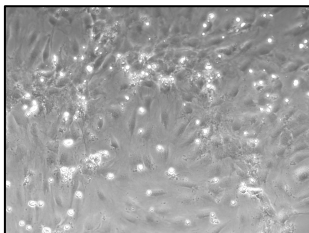


Abb. 16:
Fibroblasten mit 25% Alkohol
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

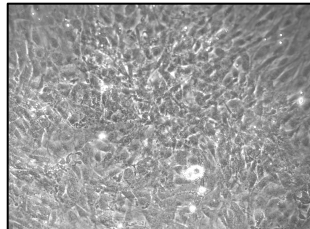
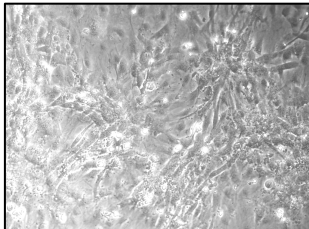


Abb. 17:
Fibroblasten mit 50% Alkohol
(Objektiv 10x)

Links: 2% FCS im Medium
Rechts: 10% FCS im Medium

8.1.2 In vivo Studie

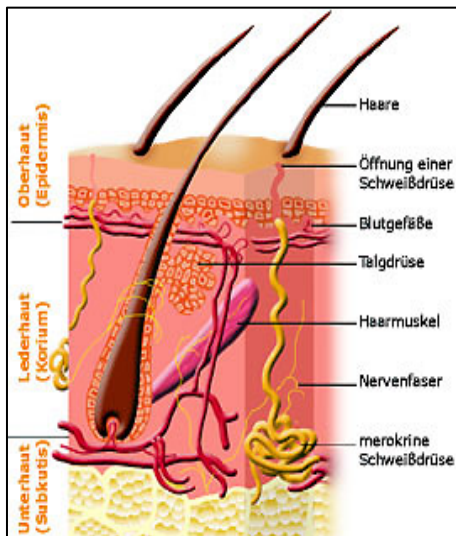


Abb. 18:
Aufbau der Haut (Übersicht)

Oberhaut (Epidermis): mehrschichtiges Epithel = Schutz vor äusseren Einflüssen

Lederhaut (Dermis, Korium): hauptsächlich Bindegewebsfasern = Verankerung und Ernährung der Epidermis

Unterhaut (Subcutis): Fett und lockeres Bindegewebe mit grossen Blutgefässen und Nerven = Unterlage

Bildquelle: Berufsgenossenschaft Chemie, www.hautkampagne.de

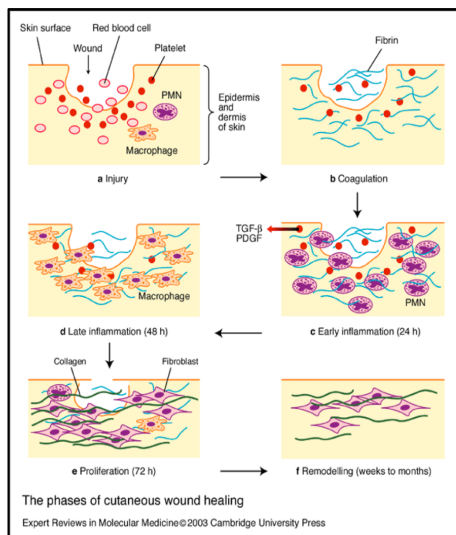


Abb. 19:
Phasen der Wundheilung (Übersicht) nach Expert Reviews in Molecular Medicine © 2003 Cambridge University Press

- Verletzung von Epidermis und Dermis der Haut:** Gewebeverlust, Gefässverletzung und damit verbundene Blutung – Freisetzung von Thrombozyten, Makrophagen und Leukozyten
- Blutstillung:** Thrombozyten aggregieren, setzen Fibrinogen frei und bilden mit dessen Umwandlungsprodukt Fibrin einen Pfropf, der die Blutung stoppt, sowie der Einwanderung von Leukozyten und Keratinozyten dient
- Frühes Stadium der Entzündung:** Thrombozyten geben Wachstumsfaktoren frei, neutrophile Granulozyten beginnen die Phagozytose
- Spätes Stadium der Entzündung:** Makrophagen setzen die Phagozytose fort und locken Fibroblasten an
- Proliferationsphase:** Fibroblasten synthetisieren Kollagen, Bildung von Bindegewebe und Epithelisierung finden statt
- Reifungsphase:** Abbau, Aufbau, Umbau und Reifung der Kollagenfasern



Abb. 20:
QuickSana® - Phytotherapeutikum

QuickSana® 1 Spüllösung: Zur Reinigung der Wunde & Erstversorgung mit Spurenelementen

QuickSana® 2 Crème: bildet einen Schutzfilm und dient als physikalische Barriere

Operation und Behandlung



Abb. 21:
Ratte in Narkose mit Schablone auf dem Rücken,
kurz vor dem Stanzen der Hautwunden



Abb. 22:
Stanzen der sechs Hautwunden mit einer Stanze von
8 mm Durchmesser

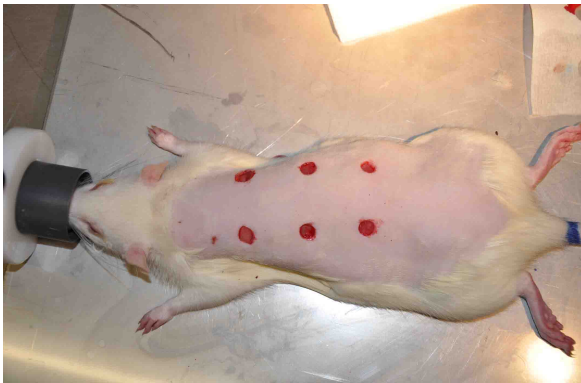


Abb. 23:
Ratte mit sechs gestanzten Löchern,
unmittelbar nach der OP



Abb. 24:
Spülen einer Wunde mit QuickSana® 1



Abb. 25:
Ratte mit aufgetragener Crème auf den entsprechenden
Wunden



Abb. 26:
Ratte im Tunnel zur Fotodokumentation

Makroskopische Beurteilung

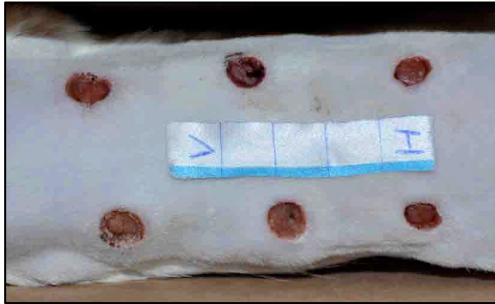


Abb. 27:
Makroskopische Auswertung (Übersicht)
Wundheilungsverlauf bei Ratte 02.13 der 28-Tage-Gruppe
Tag 3

VL: QuickSana® 1&2
VR: Negativkontrolle
ML: QuickSana® 2
MR: QuickSana® 1
HL: Chlorhexidin
HR: Betadine

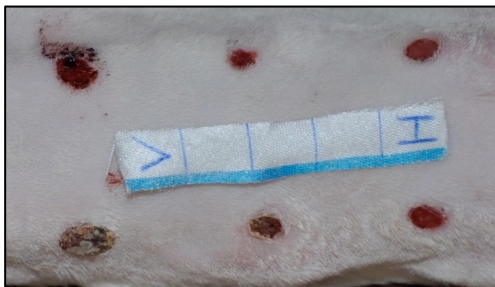


Abb. 28:
Makroskopische Auswertung (Übersicht)
Wundheilungsverlauf bei Ratte 02.13 der 28-Tage-Gruppe
Tag 7

VL: QuickSana® 1&2
VR: Negativkontrolle
ML: QuickSana® 2
MR: QuickSana® 1
HL: Chlorhexidin
HR: Betadine



Abb. 29:
Makroskopische Auswertung (Übersicht)
Wundheilungsverlauf bei Ratte 02.13 der 28-Tage-Gruppe
Tag 28

VL: QuickSana® 1&2
VR: Negativkontrolle
ML: QuickSana® 2
MR: QuickSana® 1
HL: Chlorhexidin
HR: Betadine

Histologische Auswertung

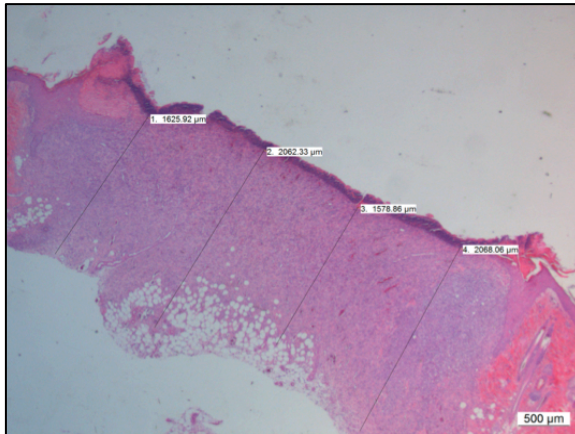


Abb. 30: HE (Objektiv 1.25x), Beispielbild
Messung der Dicke des Granulationsgewebes, 7 Tage
Ratte 02.01 MR

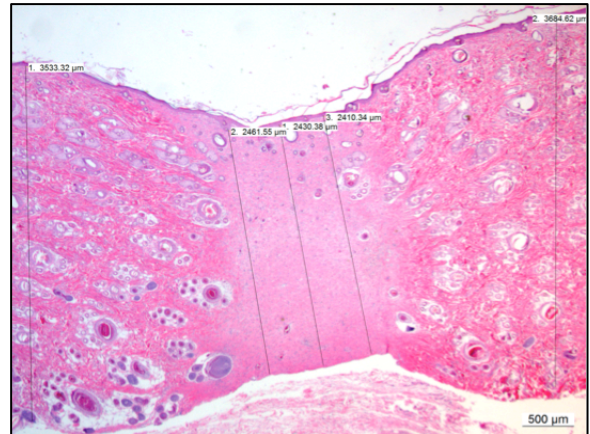


Abb. 31: HE (Objektiv 1.25x), Beispielbild
Messung der Dicke des Bindegewebes, 28 Tage
Ratte 02.10 HR

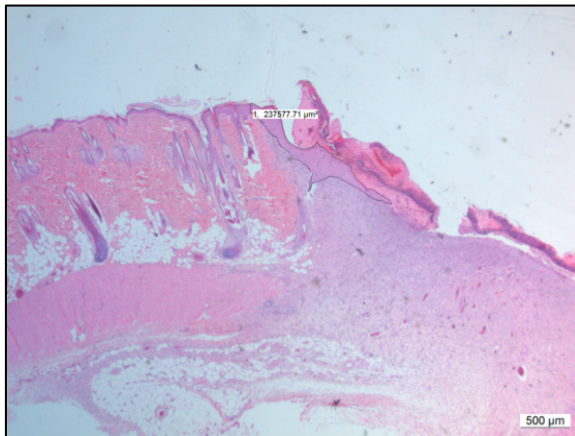


Abb. 32: HE (Objektiv 1.25x) Beispielbild
Messung der Fläche an neuem Epithel links, 7 Tage
Ratte 02.02 VR

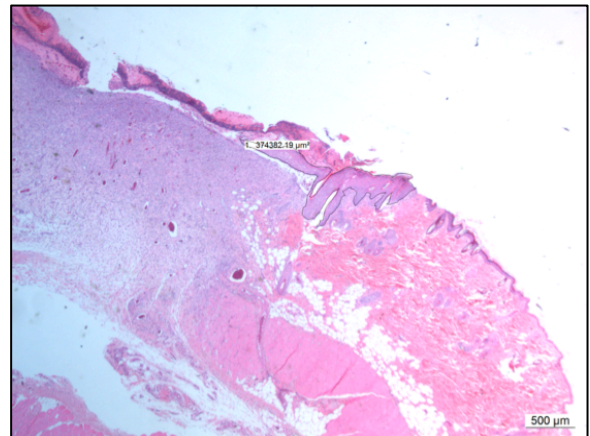


Abb. 33: HE (Objektiv 1.25x) Beispielbild
Messung der Fläche an neuem Epithel rechts, 7 Tage
Ratte 02.02 VR

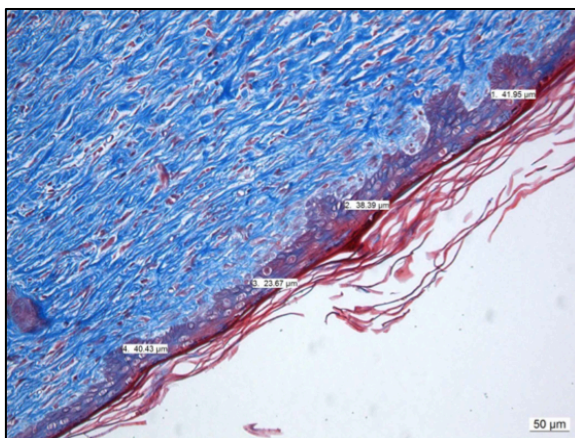


Abb. 34: GT (Objektiv 5x) Beispielbild
Messung der Dicke des neuen Epithels, 28 Tage
Ratte 02.14 VL

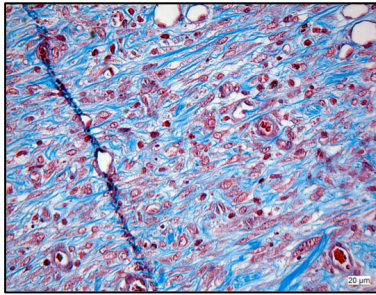


Abb. 35: Bindegewebe Menge & Qualität, GT (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.04 VL
Beispiel Score 1

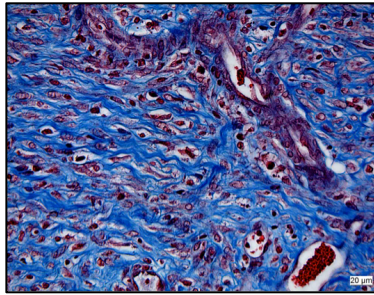


Abb. 36: Bindegewebe Menge & Qualität, GT (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.02 VR
Beispiel Score 2

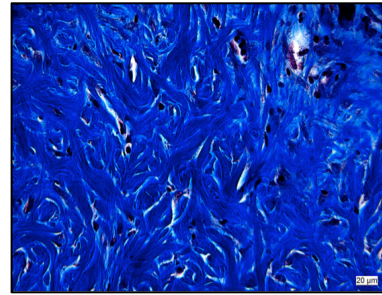


Abb. 37: Bindegewebe Menge & Qualität, GT (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.03 VL
Beispiel Score 3

Immunhistologische Auswertung

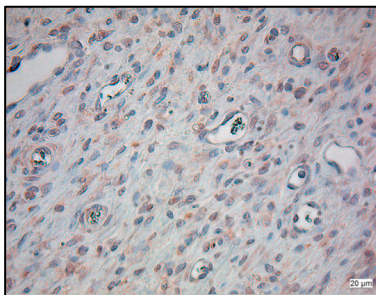


Abb. 38: TGF-β3 (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.04 VL
Beispiel Score 1

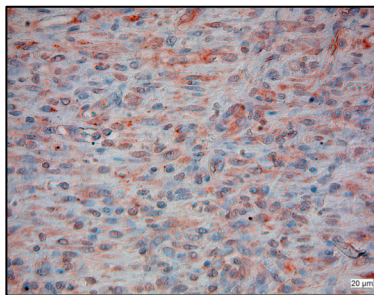


Abb. 39: TGF-β3 (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.02 VR
Beispiel Score 2

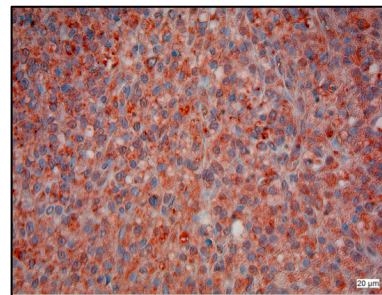


Abb. 40: TGF-β3 (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.06 VR
Beispiel Score 3

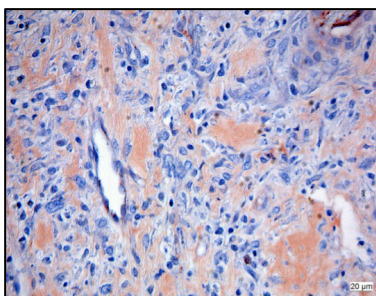


Abb. 41: Faktor 8 (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.04 MR
Beispiel Score 1

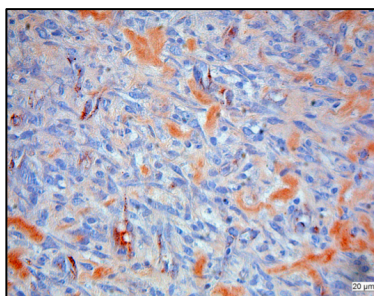


Abb. 42: Faktor 8 (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.01 ML
Beispiel Score 2

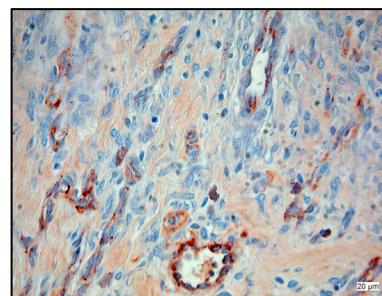
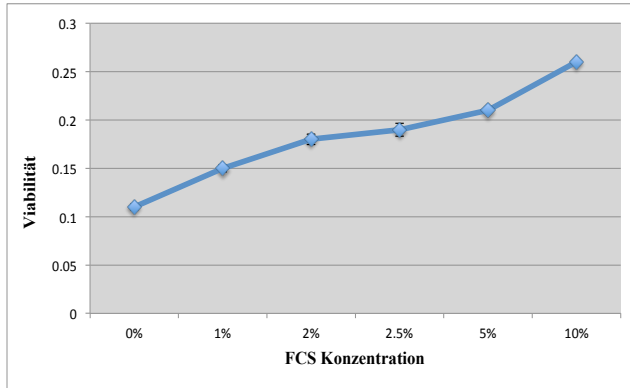


Abb. 43: Faktor 8 (Objektiv 20x)
7 Tage, Ratte 02.03 VL
Beispiel Score 3

8.2 Graphiken

8.2.1 *In vitro* Studie

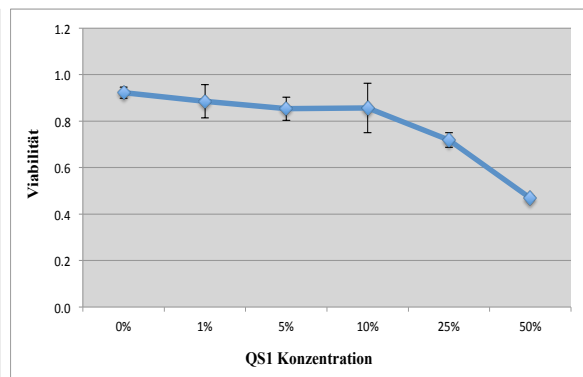
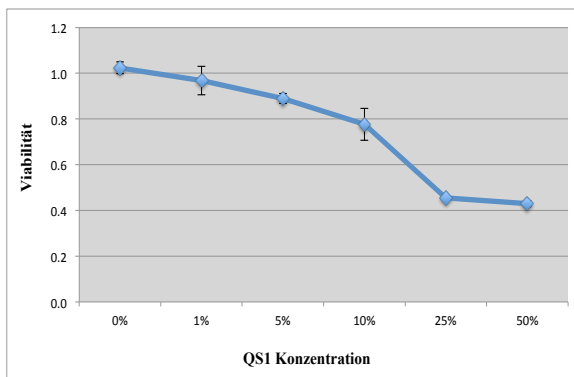
Bestimmung der FCS Konzentration



Graphik 1: MTT Viabilitätstest der FCS Konzentrationen (Extinktion)

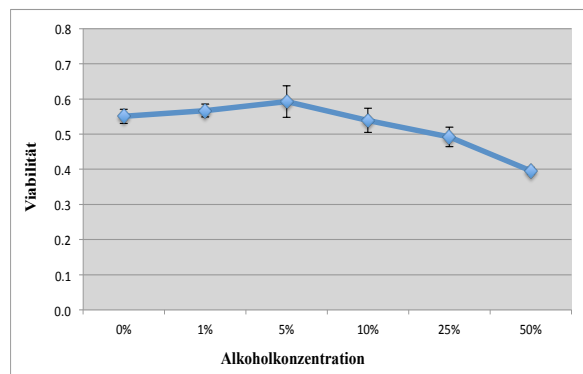
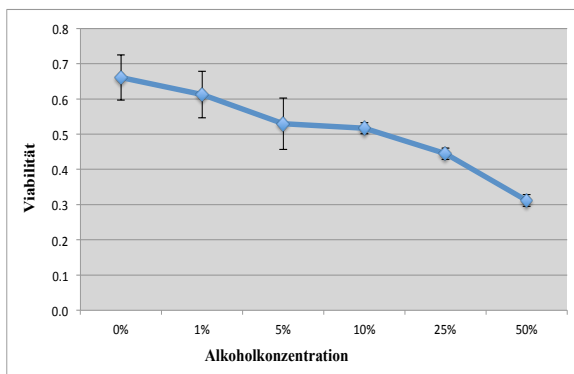
Mittelwerte und Standardabweichungen der Lebensfähigkeit der Zellen bei steigender Konzentration an FCS im Medium

Zytotoxizitätstest von QuickSana® 1 und Alkohol als Kontrolle



Graphik 2: MTT Zytotoxizitätstests von QuickSana® 1 (Extinktion)

Mittelwerte und Standardabweichungen der Lebensfähigkeit der Zellen, bei steigender QuickSana® 1 Konzentration mit 2% FCS (links) und 10% FCS (rechts) im Medium



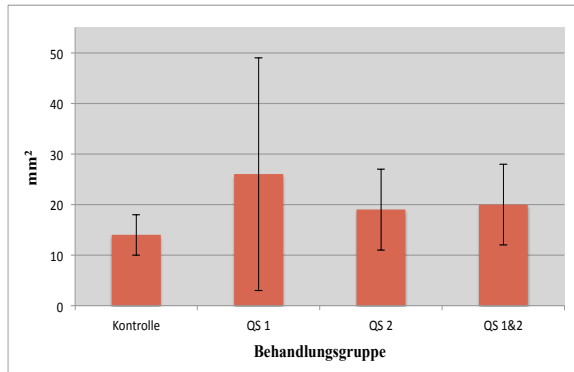
Graphik 3: MTT Zytotoxizitätstests der Alkoholkontrolle (Extinktion)

Mittelwerte und Standardabweichungen der Lebensfähigkeit der Zellen, bei steigender Alkoholkonzentration mit 2% FCS (links) und 10% FCS (rechts) im Medium

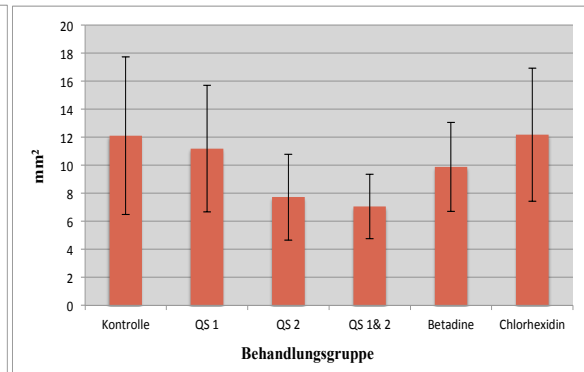
8.2.2 *In vivo* Studie

Makroskopische Auswertung

Größenbestimmung: 7- und 28-Tage-Gruppe

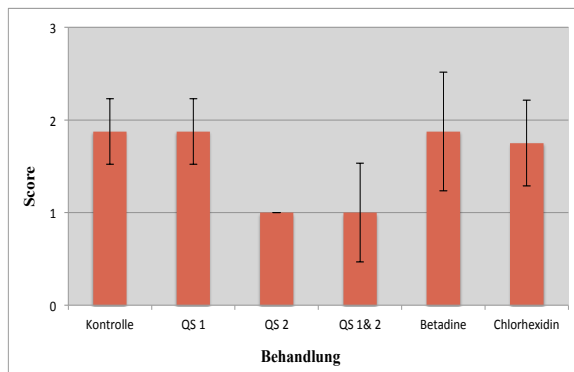


Graphik 4:
Wundfläche (mm²) - Mittelwerte und Standardabweichungen
Tag 7 der sieben Tage Gruppe

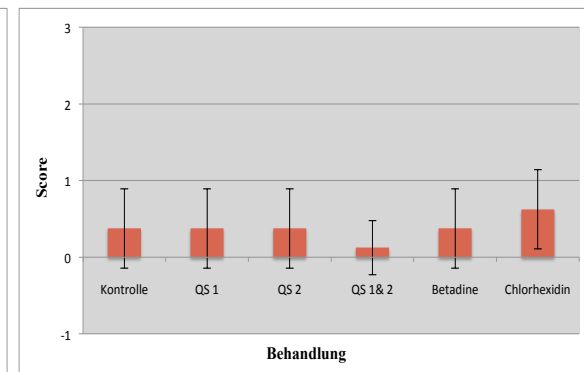


Graphik 5:
Narbenfläche (mm²) - Mittelwerte und Standardabweichungen
Tag 28 der 28 Tage Gruppe

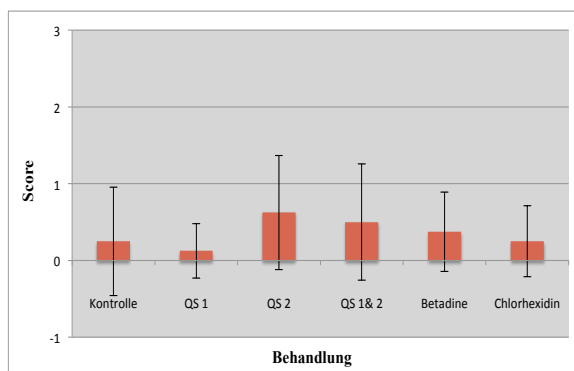
Beurteilung der Narben: 28-Tage-Gruppe



Graphik 6:
Sichtbarkeit der Narben (Score 0-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



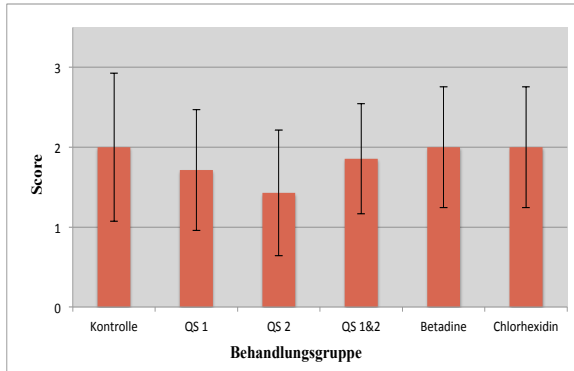
Graphik 7:
Einziehung der Narben (Score 0-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



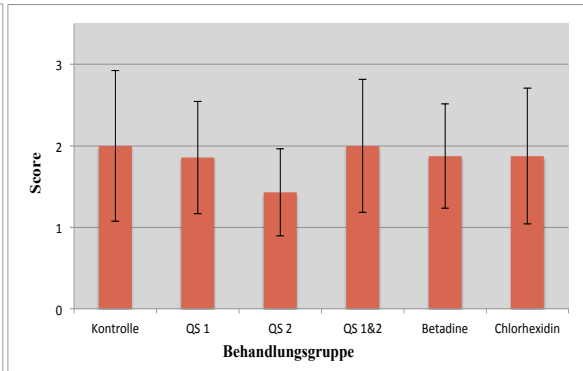
Graphik 8:
Hautverdickung im Narbenbereich (Score 0-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

Histologische Auswertung

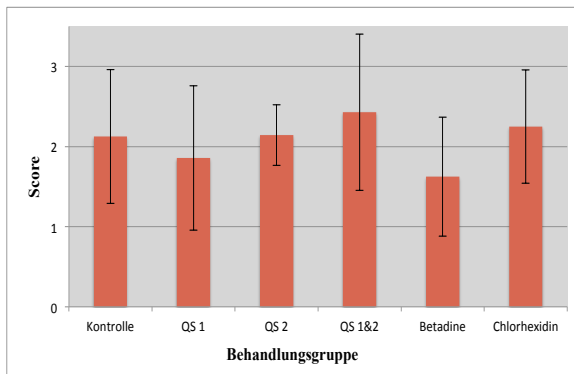
Beurteilung der Entzündung: 3-Tage-Gruppe



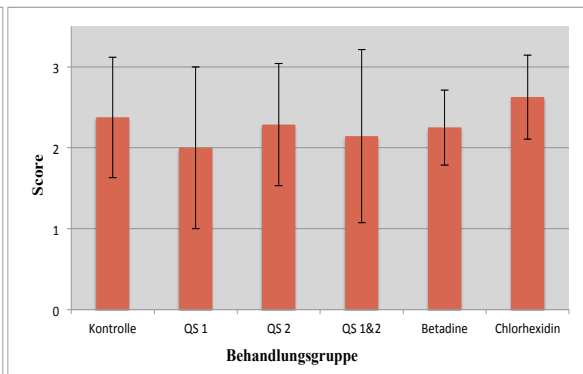
Graphik 9:
Feuchtigkeit der Wundfläche (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphik 10:
Neutrophile Granulozyten (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

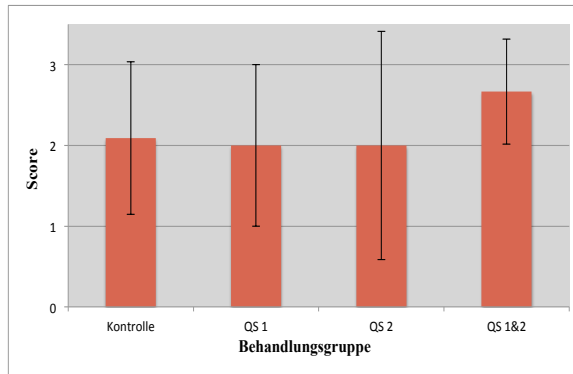


Graphik 11:
Wundödem (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

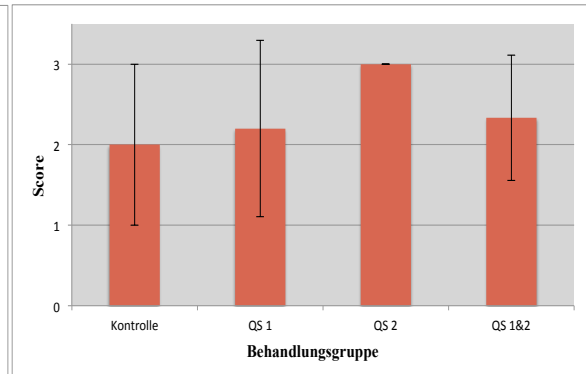


Graphik 12:
Hyperämie (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

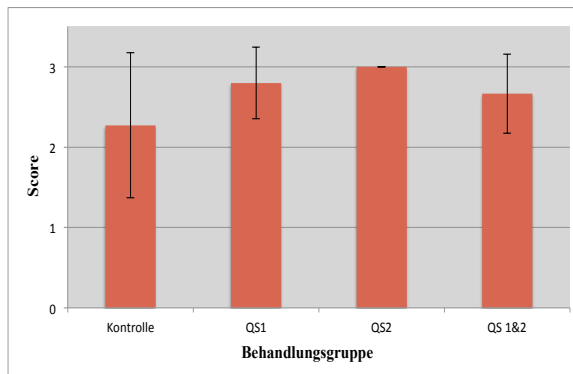
Beurteilung der Entzündung: 7-Tage-Gruppe



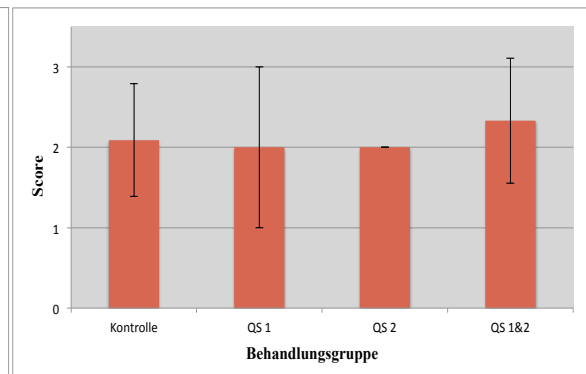
Graphik 13:
Exsudation (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphik 14:
Neutrophile Granulozyten (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

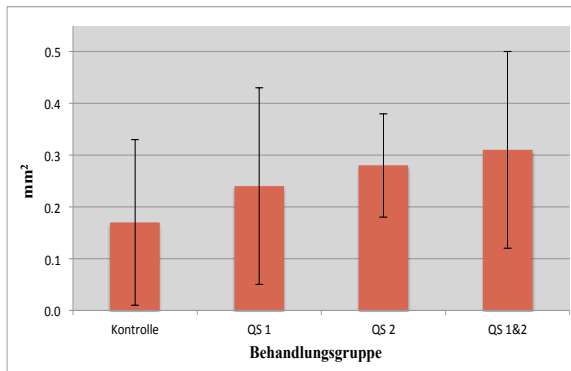


Graphik 15:
Makrophagen (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

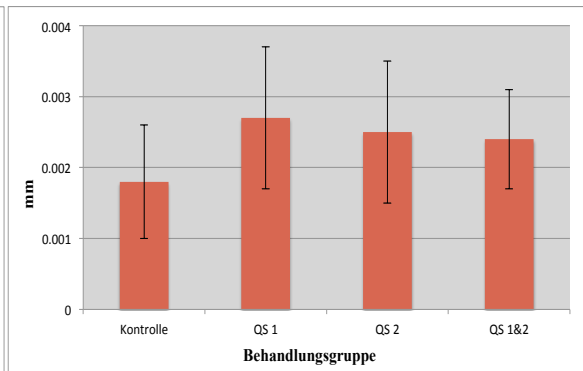


Graphik 16:
Lymphozyten (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

*Fläche an neuem Epithel & Dicke des neuen Bindegewebes (Granulationsgewebe):
7-Tage-Gruppe*

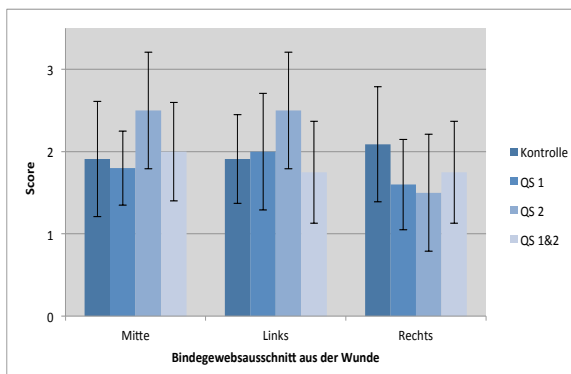


Graphik 17:
Fläche an neuem Epithel (mm²)
Mittelwerte und Standardabweichungen

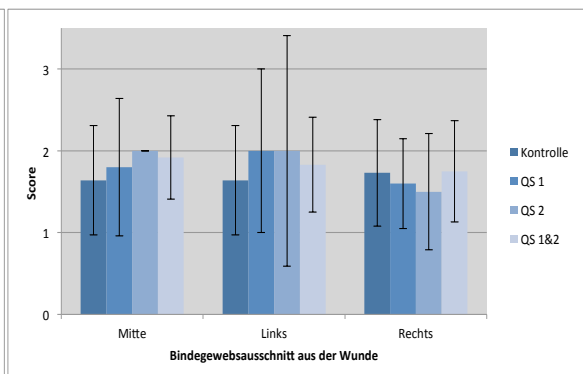


Graphik 18:
Dicke des neuen Bindegewebes (mm)
Mittelwerte und Standardabweichungen

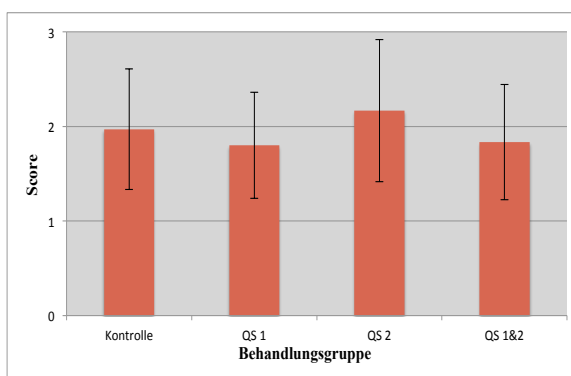
Menge & Qualität des neuen Bindegewebes (Granulationsgewebe): 7-Tage-Gruppe



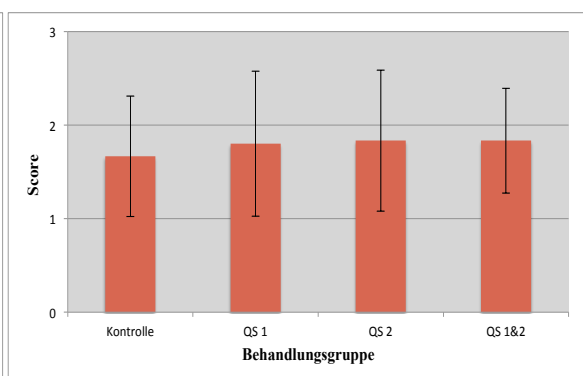
Graphik 19:
Menge des neuen Bindegewebes (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphik 20:
Qualität des neuen Bindegewebes (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

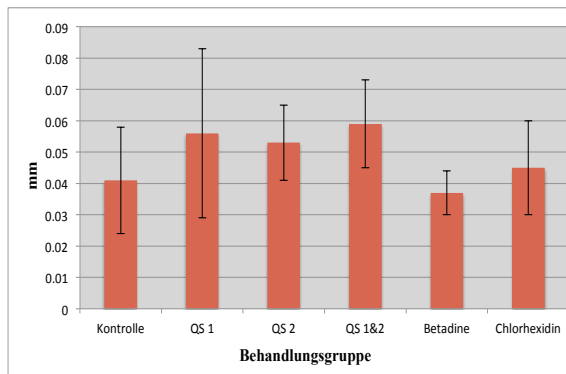


Graphik 21:
Menge des neuen Bindegewebes Insgesamt (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

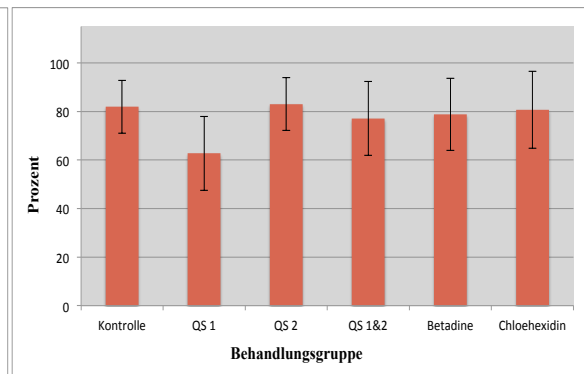


Graphik 22:
Qualität des neuen Bindegewebes Insgesamt (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

Dicke des neuen Epithels & Dicke des neuen Bindegewebes: 28-Tage-Gruppe

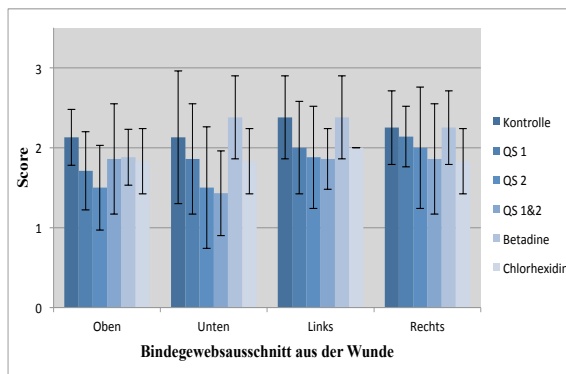


Graphik 23:
Dicke des neuen Epithels (mm)
Mittelwerte und Standardabweichungen

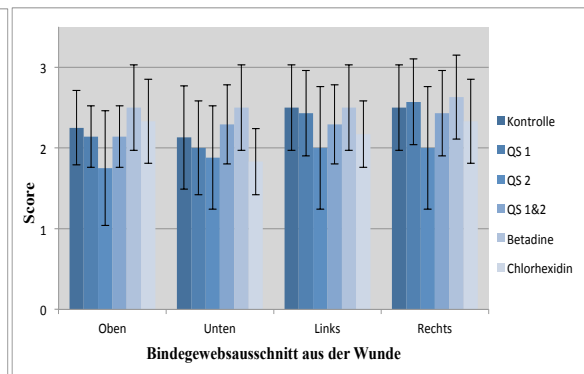


Graphik 24:
Dicke des Bindegewebes (%) Verhältnis zur gesunden Haut
Mittelwerte und Standardabweichungen

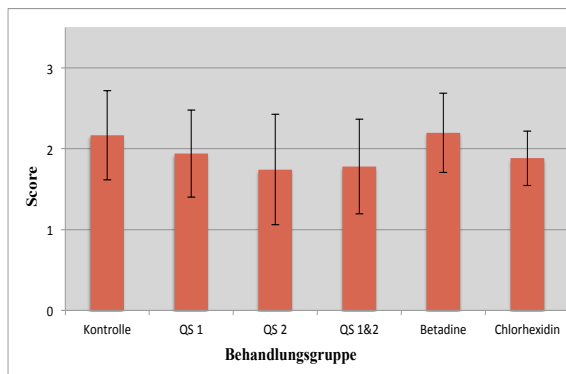
Menge & Qualität des neuen Bindegewebes: 28-Tage-Gruppe



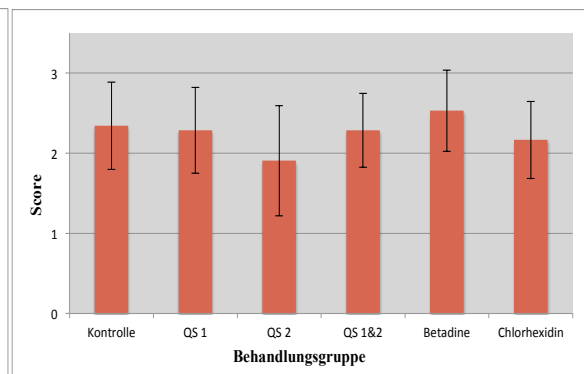
Graphik 25:
Menge des neuen Bindegewebes (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphik 26:
Qualität des neuen Bindegewebes (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



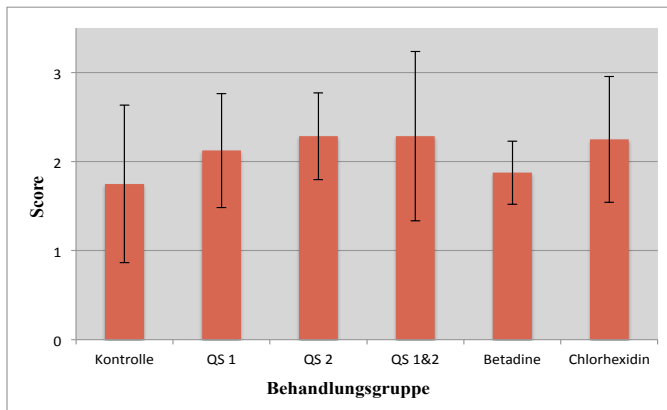
Graphik 27:
Menge des neuen Bindegewebes Insgesamt (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphik 28:
Qualität des neuen Bindegewebes Insgesamt (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

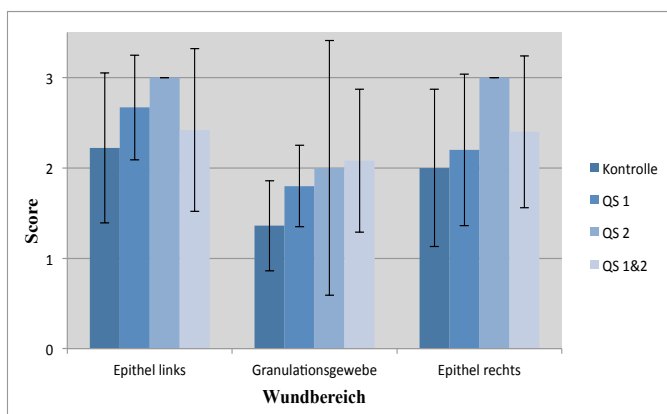
Immunhistologische Auswertung

TGF- β 3: 3-Tage-Gruppe



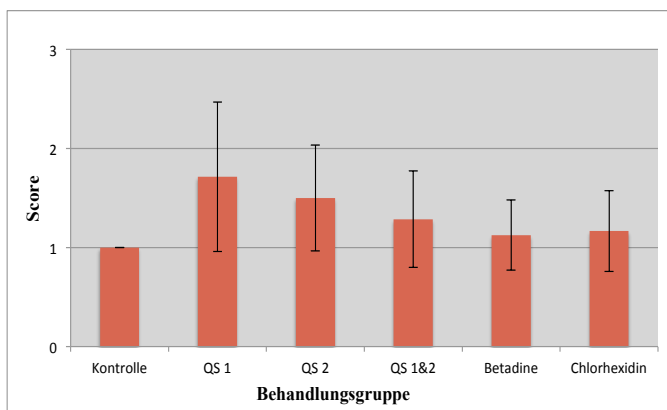
Graphik 29:
TGF- β 3 Expression (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

TGF- β 3: 7-Tage-Gruppe



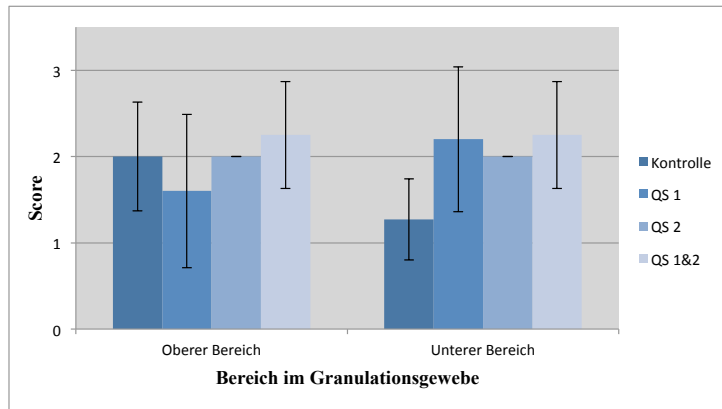
Graphik 30:
TGF- β 3 Expression (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

TGF- β 3: 28-Tage-Gruppe



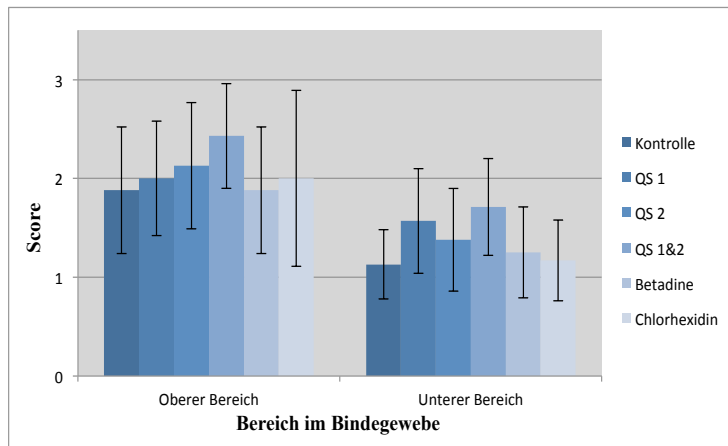
Graphik 31:
TGF- β 3 Expression (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

Faktor 8: 7-Tage-Gruppe



Graphik 32:
Gefäßmenge (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

Faktor 8: 28-Tage-Gruppe



Graphik 33:
Gefäßmenge (Score 1-3)
Mittelwerte und Standardabweichungen

8.3 Tabellen

8.3.1 *In vitro* Studie

Tab.1: Bestimmung der FCS Konzentration (Extinktion)

FCS	0%	1%	2%	2.5%	5%	10%
Extinktion	0.11	0.16	0.17	0.19	0.21	0.26
	0.12	0.16	0.18	0.19	0.22	0.26
	0.12	0.15	0.17	0.18	0.22	0.26
	0.11	n.a.	0.17	0.18	0.22	0.27
Mittelwert	0.11	0.15	0.18	0.19	0.21	0.26
Stabw.	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00

Tab.2: MTT Zytotoxizitätstest von QuickSana[®] 1 mit 2% FCS im Medium (Extinktion)

QuickSana[®] 1	0%	1%	5%	10%	25%	50%
Extinktion	1.04	1.05	0.88	0.87	0.45	0.41
	1.05	0.93	0.92	0.71	0.46	0.43
	1.00	0.91	0.89	0.74	0.45	0.43
	1.00	0.98	0.88	0.78	0.46	0.44
Mittelwert	1.02	0.97	0.89	0.78	0.46	0.43
Stabw.	0.03	0.06	0.02	0.07	0.01	0.01

Tab.3: MTT Zytotoxizitätstest von QuickSana[®] 1 mit 10% FCS im Medium (Extinktion)

QuickSana[®] 1	0%	1%	5%	10%	25%	50%
Extinktion	0.94	0.80	0.78	0.75	0.72	0.48
	0.92	0.89	0.89	0.84	0.68	0.48
	0.94	0.97	0.86	0.83	0.72	0.46
	0.89	0.88	0.88	1.01	0.75	0.46
Mittelwert	0.92	0.89	0.85	0.86	0.72	0.47
Stabw.	0.02	0.07	0.05	0.11	0.03	0.01

Tab.4: MTT Zytotoxizitätstest von Alkohol mit 2% FCS im Medium (Extinktion)

Alkohol	0%	1%	5%	10%	25%	50%
Extinktion	0.70	0.71	0.48	0.53	0.45	0.32
	0.71	0.59	0.46	0.51	0.44	0.31
	0.65	0.59	0.60	0.53	0.42	0.29
	0.57	0.56	0.59	0.50	0.46	0.32
Mittelwert	0.66	0.61	0.53	0.52	0.44	0.31
Stabw.	0.06	0.07	0.07	0.02	0.02	0.02

Tab.5: MTT Zytotoxizitätstest von Alkohol mit 10% FCS im Medium (Extinktion)

Alkohol	0%	1%	5%	10%	25%	50%
Extinktion	0.53	0.57	0.53	0.56	0.52	0.41
	0.55	0.56	0.58	0.49	0.46	0.40
	0.55	0.55	0.63	0.55	0.48	0.39
	0.58	0.59	0.63	0.56	0.51	0.39
Mittelwert	0.55	0.57	0.59	0.54	0.49	0.40
Stabw.	0.02	0.02	0.04	0.03	0.03	0.01

8.3.2 *In vivo* Studie

Makroskopische Auswertung

Tab.6: Wundfläche in mm² : 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	17			
01 / W2	5			
01 / W3				34
01 / W4				19
01 / W5		13		
01 / W6			18	
02 / W1			12	
02 / W2		8		
02 / W3	17			
02 / W4	14			
02 / W5				13
02 / W6				25
03 / W1				15
03 / W2				10
03 / W3			20	
03 / W4		71		
03 / W5	15			
03 / W6	11			
04 / W1	14			
04 / W2	11			
04 / W3				22
04 / W4				15
04 / W5		24		
04 / W6			8	
05 / W1		18		
05 / W2			28	
05 / W3	14			
05 / W4	19			
05 / W5				26
05 / W6				16
06 / W1				32
06 / W2				9
06 / W3		19		
06 / W4			28	
06 / W5	18			
06 / W6	13			
Mittelwert	14	26	19	20
Stabw.	4	23	8	8

Tab.7: Narbenfläche in mm² : 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W1	15.3	14	10	6	15	6
07 / W2						
07 / W3						
07 / W4	15	13.44	12	12	9.6	12
07 / W5						
07 / W6						
08 / W1	10	6	4.5	8	12	12
08 / W2						
08 / W3						
09 / W4	7.56	6.48	5.4	4.5	5	12
09 / W5						
09 / W6						
10 / W1	6	10.08	5.55	7.56	12.25	17
10 / W2						
10 / W3						
11 / W4	13	16.25	10	6	7.2	17.5
11 / W5						
11 / W6						
12 / W1	7.15	5	7	10	8	13.44
12 / W2						
12 / W3						
12 / W4	22.8	11.8	4.8	5.4		
12 / W5						
12 / W6						
13 / W1	13	16.25	10	6	7.2	17.5
13 / W2						
13 / W3						
13 / W4	7.15	5	7	10	8	13.44
13 / W5						
13 / W6						
14 / W1	22.8	11.8	4.8	5.4		
14 / W2						
14 / W3						
14 / W4	22.8	11.8	4.8	5.4		
14 / W5						
14 / W6						
Mittelwert	12.10	11.19	7.72	7.06	9.88	12.18
Stabw.	5.61	4.52	3.07	2.30	3.18	4.76

Tab.8: Beurteilung der Narben, *Einziehung (Score)*: 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W1				0		
07 / W2	0					
07 / W3			1			
07 / W4		0				
07 / W5						1
07 / W6					0	
08 / W1	0					
08 / W2						0
08 / W3		0				
08 / W4				1		
08 / W5					0	
08 / W6			0			
09 / W1						1
09 / W2					1	
09 / W3				0		
09 / W4	1					
09 / W5			0			
09 / W6		0				
10 / W1					1	
10 / W2			0			
10 / W3	1					
10 / W4						0
10 / W5		1				
10 / W6				0		
11 / W1			1			
11 / W2		1				
11 / W3						1
11 / W4					0	
11 / W5				0		
11 / W6	0					
12 / W1		0				
12 / W2				0		
12 / W3					1	
12 / W4			0			
12 / W5	0					
12 / W6						1
13 / W1				0		
13 / W2	0					
13 / W3			1			
13 / W4		0				
13 / W5						1
13 / W6					0	
14 / W1					0	
14 / W2						0
14 / W3		1				
14 / W4			0			
14 / W5	1					
14 / W6				0		
Mittelwert	0.38	0.38	0.38	0.13	0.38	0.63
Stabw.	0.52	0.52	0.52	0.35	0.52	0.52

Tab.9: Beurteilung der Narben, *Hautfaltenprobe (Score)*: 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W1				0		
07 / W2	0					
07 / W3			0			
07 / W4		0				
07 / W5						0
07 / W6					0	
08 / W1	0					
08 / W2						1
08 / W3		0				
08 / W4				1		
08 / W5					0	
08 / W6			0			
09 / W1						1
09 / W2					1	
09 / W3				2		
09 / W4	2					
09 / W5			2			
09 / W6		1				
10 / W1					1	
10 / W2			0			
10 / W3	0					
10 / W4						0
10 / W5		0				
10 / W6				0		
11 / W1			0			
11 / W2		0				
11 / W3						0
11 / W4					0	
11 / W5				1		
11 / W6	0					
12 / W1		0				
12 / W2				0		
12 / W3					0	
12 / W4			1			
12 / W5	0					
12 / W6						0
13 / W1				0		
13 / W2	0					
13 / W3			1			
13 / W4		0				
13 / W5						0
13 / W6					1	
14 / W1					0	
14 / W2						0
14 / W3		0				
14 / W4			1			
14 / W5	0					
14 / W6				0		
Mittelwert	0.25	0.13	0.63	0.50	0.38	0.25
Stabw.	0.71	0.35	0.74	0.76	0.52	0.46

Tab.10: Beurteilung der Narben, *Sichtbarkeit* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W1				1		
07 / W2	2					
07 / W3			1			
07 / W4		2				
07 / W5						2
07 / W6					2	
08 / W1	2					
08 / W2						2
08 / W3		2				
08 / W4				2		
08 / W5					1	
08 / W6			1			
09 / W1						1
09 / W2					2	
09 / W3				1		
09 / W4	2					
09 / W5			1			
09 / W6		2				
10 / W1					3	
10 / W2			1			
10 / W3	2					
10 / W4						1
10 / W5		2				
10 / W6				1		
11 / W1			1			
11 / W2		2				
11 / W3						2
11 / W4					2	
11 / W5				1		
11 / W6	2					
12 / W1		2				
12 / W2				0		
12 / W3					1	
12 / W4			1			
12 / W5	2					
12 / W6						2
13 / W1				1		
13 / W2	1					
13 / W3			1			
13 / W4		1				
13 / W5						2
13 / W6					2	
14 / W1					2	
14 / W2						2
14 / W3		2				
14 / W4			1			
14 / W5	2					
14 / W6				1		
Mittelwert	1.88	1.88	1.00	1.00	1.88	1.75
Stabw.	0.35	0.35	0.00	0.53	0.64	0.46

Histologische AuswertungTab.11: Beurteilung der Entzündung, *Feuchtigkeit* (Score): 3-Tage-Gruppe

Ratte/ Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
15 / W1				2		
15 / W2	2					
15 / W4		2				
15 / W5						1
15 / W6					2	
16 / W1	3					
16 / W2						3
16 / W3		2				
16 / W4				3		
16 / W5					1	
16 / W6			1			
17 / W1						1
17 / W2					1	
17 / W3				1		
17 / W4	1					
17 / W5			1			
17 / W6		1				
18 / W1					3	
18 / W2			3			
18 / W3	1					
18 / W4						2
18 / W5		1				
18 / W6				1		
19 / W1			1			
19 / W2		3				
19 / W3						3
19 / W4					3	
19 / W5				2		
19 / W6	3					
20 / W1		1				
20 / W2				2		
20 / W3					2	
20 / W4			2			
20 / W5	2					
20 / W6						2
21 / W2	3					
21 / W3			1			
21 / W4		2				
21 / W5						2
21 / W6					2	
22 / W1					2	
22 / W2						2
22 / W4			1			
22 / W5	1					
22 / W6				2		
Mittelwert	2.00	1.71	1.43	1.86	2.00	2.00
Stabw.	0.93	0.76	0.79	0.69	0.76	0.76

Tab.12: Beurteilung der Entzündung, *Neutrophile Granulozyten* (Score): 3-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
15 / W1				3		
15 / W2	3					
15 / W4		2				
15 / W5						2
15 / W6					2	
16 / W1	1					
16 / W2						1
16 / W3		1				
16 / W4				1		
16 / W5					1	
16 / W6			1			
17 / W1						2
17 / W2					1	
17 / W3				1		
17 / W4	2					
17 / W5			1			
17 / W6		2				
18 / W1					3	
18 / W2			2			
18 / W3	1					
18 / W4						1
18 / W5		1				
18 / W6				2		
19 / W1			2			
19 / W2		3				
19 / W3						3
19 / W4					2	
19 / W5				2		
19 / W6	3					
20 / W1		2				
20 / W2				3		
20 / W3					2	
20 / W4			1			
20 / W5	2					
20 / W6						1
21 / W2	3					
21 / W3			2			
21 / W4		2				
21 / W5						3
21 / W6					2	
22 / W1					2	
22 / W2						2
22 / W4			1			
22 / W5	1					
22 / W6				2		
Mittelwert	2.00	1.86	1.43	2.00	1.88	1.88
Stabw.	0.93	0.69	0.53	0.82	0.64	0.83

Tab.13: Beurteilung der Entzündung, *Ödem* (Score): 3-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
15 / W1				1		
15 / W2	1					
15 / W4		1				
15 / W5						2
15 / W6					1	
16 / W1	1					
16 / W2						1
16 / W3		1				
16 / W4				3		
16 / W5					1	
16 / W6			2			
17 / W1						2
17 / W2					1	
17 / W3				1		
17 / W4	3					
17 / W5			2			
17 / W6		1				
18 / W1					3	
18 / W2			3			
18 / W3	2					
18 / W4						3
18 / W5		3				
18 / W6				3		
19 / W1			2			
19 / W2		3				
19 / W3						3
19 / W4					2	
19 / W5				3		
19 / W6	3					
20 / W1		2				
20 / W2				3		
20 / W3					1	
20 / W4			2			
20 / W5	2					
20 / W6						2
21 / W2	3					
21 / W3			2			
21 / W4		2				
21 / W5						3
21 / W6					2	
22 / W1					2	
22 / W2						2
22 / W4			2			
22 / W5	2					
22 / W6				3		
Mittelwert	2.13	1.86	2.14	2.43	1.63	2.25
Stabw.	0.83	0.90	0.38	0.98	0.74	0.71

Tab.14: Beurteilung der Entzündung, *Hyperämie* (Score): 3-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
15 / W1				1		
15 / W2	2					
15 / W4		1				
15 / W5						3
15 / W6					2	
16 / W1	3					
16 / W2						3
16 / W3		1				
16 / W4				1		
16 / W5					2	
16 / W6			3			
17 / W1						3
17 / W2					2	
17 / W3				3		
17 / W4	3					
17 / W5			3			
17 / W6		3				
18 / W1					2	
18 / W2			1			
18 / W3	3					
18 / W4						2
18 / W5		3				
18 / W6				3		
19 / W1			2			
19 / W2		3				
19 / W3						2
19 / W4					3	
19 / W5				1		
19 / W6	3					
20 / W1		2				
20 / W2				3		
20 / W3					3	
20 / W4			2			
20 / W5	2					
20 / W6						3
21 / W2	2					
21 / W3			3			
21 / W4		1				
21 / W5						3
21 / W6					2	
22 / W1					2	
22 / W2						2
22 / W4			2			
22 / W5	1					
22 / W6				3		
Mittelwert	2.38	2.00	2.29	2.14	2.25	2.63
Stabw.	0.74	1.00	0.76	1.07	0.46	0.52

Tab.15: Beurteilung der Entzündung, *Exsudation* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	2			
01 / W2	1			
01 / W3				3
01 / W4				3
01 / W6		1		
02 / W1			1	
02 / W2		2		
02 / W3	3			
02 / W4	3			
02 / W5				3
02 / W6				3
03 / W1				3
03 / W2				1
03 / W5	3			
03 / W6	3			
04 / W1	1			
04 / W2	1			
04 / W3				3
04 / W4				3
04 / W5		1		
04 / W6			3	
05 / W1		3		
05 / W3	1			
05 / W5				2
05 / W6				3
06 / W1				3
06 / W2				2
06 / W3		3		
06 / W5	2			
06 / W6	3			
Mittelwert	2.09	2.00	2.00	2.67
Stabw.	0.94	1.00	1.41	0.65

Tab.16: Beurteilung der Entzündung, *Lymphozyten* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1			
01 / W2	2			
01 / W3				2
01 / W4				3
01 / W6		1		
02 / W1			2	
02 / W2		3		
02 / W3	2			
02 / W4	2			
02 / W5				1
02 / W6				2
03 / W1				2
03 / W2				1
03 / W5	2			
03 / W6	2			
04 / W1	2			
04 / W2	3			
04 / W3				2
04 / W4				3
04 / W5		1		
04 / W6			2	
05 / W1		2		
05 / W3	1			
05 / W5				3
05 / W6				3
06 / W1				3
06 / W2				3
06 / W3		3		
06 / W5	3			
06 / W6	3			
Mittelwert	2.09	2.00	2.00	2.33
Stabw.	0.70	1.00	0.00	0.78

Tab.17: Beurteilung der Entzündung, *Makrophagen* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1			
01 / W2	2			
01 / W3				3
01 / W4				3
01 / W6		2		
02 / W1			3	
02 / W2		3		
02 / W3	3			
02 / W4	3			
02 / W5				2
02 / W6				3
03 / W1				3
03 / W2				2
03 / W5	3			
03 / W6	3			
04 / W1	1			
04 / W2	1			
04 / W3				2
04 / W4				2
04 / W5		3		
04 / W6			3	
05 / W1		3		
05 / W3	2			
05 / W5				3
05 / W6				3
06 / W1				3
06 / W2				3
06 / W3		3		
06 / W5	3			
06 / W6	3			
Mittelwert	2.27	2.80	3.00	2.67
Stabw.	0.90	0.45	0.00	0.49

Tab.18: Beurteilung der Entzündung, *Neutrophile Granulozyten* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1			
01 / W2	2			
01 / W3				3
01 / W4				3
01 / W6		1		
02 / W1			3	
02 / W2		3		
02 / W3	3			
02 / W4	3			
02 / W5				2
02 / W6				2
03 / W1				2
03 / W2				1
03 / W5	3			
03 / W6	1			
04 / W1	1			
04 / W2	1			
04 / W3				2
04 / W4				1
04 / W5		1		
04 / W6			3	
05 / W1		3		
05 / W3	1			
05 / W5				3
05 / W6				3
06 / W1				3
06 / W2				3
06 / W3		3		
06 / W5	3			
06 / W6	3			
Mittelwert	2.00	2.20	3.00	2.33
Stabw.	1.00	1.10	0.00	0.78

Tab.19: Fläche an neuem Epithel links und rechts in mm² : 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1 li.	0.04			
re.	-			
01 / W2 li.	0.04			
re.	0.04			
01 / W3 li.				0.39
re.				0.39
01 / W4 li.				0.51
re.				0.20
01 / W6 li.		0.02		
re.		0.11		
02 / W1 li.			0.28	
re.			0.19	
02 / W2 li.		0.24		
re.		0.37		
02 / W3 li.	-			
re.	0.27			
02 / W4 li.	0.49			
re.	0.15			
02 / W5 li.				0.03
re.				-
02 / W6 li.				0.24
re.				-
03 / W1 li.				0.21
re.				0.34
03 / W2 li.				0.13
re.				-
03 / W5 li.	0.26			
re.	0.37			
03 / W6 li.	0.17			
re.	0.60			
04 / W1 li.	-			
re.	0.07			
04 / W2 li.	0.06			
re.	0.04			
04 / W3 li.				0.75
re.				0.40
04 / W4 li.				0.70
re.				-
04 / W5 li.		0.06		
re.		0.18		
04 / W6 li.			0.23	
re.			0.42	
05 / W1 li.		0.17		
re.		0.38		
05 / W3 li.	0.10			
re.	0.09			
05 / W5 li.				0.10
re.				0.27
05 / W6 li.				0.42
re.				0.17
06 / W1 li.				0.25
re.				0.19
06 / W2 li.				0.23
re.				-
06 / W3 li.		0.40		
re.		0.57		
06 / W5 li.	0.19			
re.	0.12			
06 / W6 li.	0.12			
re.	0.04			
Mittelwert	0.17	0.24	0.28	0.31
Stabw.	0.16	0.19	0.10	0.19

Tab.20: Dicke des neuen Bindegewebes (Granulationsgewebe) in mm: 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	0.0009			
01 / W2	0.0013			
01 / W3				0.0021
01 / W4				0.0032
01 / W6		0.0023		
02 / W1			0.0018	
02 / W2		0.0018		
02 / W3	0.0033			
02 / W4	0.0019			
02 / W5				0.0021
02 / W6				0.0025
03 / W1				0.0015
03 / W2				0.0015
03 / W5	0.0023			
03 / W6	0.0025			
04 / W1	0.0013			
04 / W2	0.0014			
04 / W3				0.0030
04 / W4				0.0030
04 / W5		0.0019		
04 / W6			0.0032	
05 / W1		0.0039		
05 / W3	0.0006			
05 / W5				0.0032
05 / W6				0.0028
06 / W1				0.0015
06 / W2				0.0021
06 / W3		0.0038		
06 / W5	0.0029			
06 / W6	0.0015			
Mittelwert	0.0018	0.0027	0.0025	0.0024
Stabw.	0.0008	0.0010	0.0010	0.0007

Tab.21: Menge an neuem Bindegewebe, *Mitte* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1			
01 / W2	1			
01 / W3				2
01 / W4				3
01 / W6		2		
02 / W1			2	
02 / W2		2		
02 / W3	3			
02 / W4	3			
02 / W5				2
02 / W6				1
03 / W1				3
03 / W2				2
03 / W5	2			
03 / W6	2			
04 / W1	1			
04 / W2	2			
04 / W3				2
04 / W4				2
04 / W5		2		
04 / W6			3	
05 / W1		1		
05 / W3	2			
05 / W5				2
05 / W6				2
06 / W1				1
06 / W2				2
06 / W3		2		
06 / W5	2			
06 / W6	2			
Mittelwert	1.91	1.80	2.50	2.00
Stabw.	0.70	0.45	0.71	0.60

Tab.22: Menge an neuem Bindegewebe, *links und rechts* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1				1			
01 / W2	2				2			
01 / W3				2				1
01 / W4				2				1
01 / W6		2				1		
02 / W1			2				1	
02 / W2		3				2		
02 / W3	2				3			
02 / W4	2				3			
02 / W5				1				1
02 / W6				1				2
03 / W1				3				3
03 / W2				1				1
03 / W5	2				2			
03 / W6	3				3			
04 / W1	2				1			
04 / W2	2				2			
04 / W3				2				2
04 / W4				2				2
04 / W5		2				2		
04 / W6			3				2	
05 / W1		1				1		
05 / W3	1				2			
05 / W5				2				2
05 / W6				2				2
06 / W1				1				2
06 / W2				2				2
06 / W3		2				2		
06 / W5	2				2			
06 / W6	2				2			
Mittelwert	1.91	2.00	2.50	1.75	2.09	1.60	1.50	1.75
Stabw.	0.54	0.71	0.71	0.62	0.70	0.55	0.71	0.62

Tab.23: Qualität an neuem Bindegewebe, *Mitte* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1			
01 / W2	2			
01 / W3				2
01 / W4				2
01 / W6		2		
02 / W1			2	
02 / W2		2		
02 / W3	2			
02 / W4	2			
02 / W5				1
02 / W6				2
03 / W1				3
03 / W2				2
03 / W5	1			
03 / W6	3			
04 / W1	1			
04 / W2	1			
04 / W3				2
04 / W4				2
04 / W5		1		
04 / W6			2	
05 / W1		1		
05 / W3	2			
05 / W5				2
05 / W6				2
06 / W1				1
06 / W2				2
06 / W3		3		
06 / W5	2			
06 / W6	1			
Mittelwert	1.64	1.80	2.00	1.92
Stabw.	0.67	0.84	0.00	0.51

Tab.24: Qualität an neuem Bindegewebe, *links und rechts* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1				1			
01 / W2	2				2			
01 / W3				2				2
01 / W4				2				2
01 / W6		2				1		
02 / W1			1				1	
02 / W2		3				2		
02 / W3	2				2			
02 / W4	2				2			
02 / W5				1				1
02 / W6				2				2
03 / W1				3				3
03 / W2				1				1
03 / W5	1				1			
03 / W6	3				3			
04 / W1	1				1			
04 / W2	1				2			
04 / W3				2				2
04 / W4				2				2
04 / W5		1				2		
04 / W6			3				2	
05 / W1		1				1		
05 / W3	1				2			
05 / W5				2				1
05 / W6				2				2
06 / W1				1				1
06 / W2				2				2
06 / W3		3				2		
06 / W5	2				2			
06 / W6	2				1			
Mittelwert	1.64	2.00	2.00	1.83	1.73	1.60	1.50	1.75
Stabw.	0.67	1.00	1.41	0.58	0.65	0.55	0.71	0.62

Tab.25: Menge & Qualität an neuem Bindegewebe, *Insgesamt- mi./li./re.* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1				1			
01 / W2	1				2			
01 / W3				2				2
01 / W4				3				2
01 / W6		2				2		
02 / W1			2				2	
02 / W2		2				2		
02 / W3	3				2			
02 / W4	3				2			
02 / W5				2				1
02 / W6				1				2
03 / W1				3				3
03 / W2				2				2
03 / W5	2				1			
03 / W6	2				3			
04 / W1	1				1			
04 / W2	2				1			
04 / W3				2				2
04 / W4				2				2
04 / W5		2				1		
04 / W6			3				2	
05 / W1		1				1		
05 / W3	2				2			
05 / W5				2				2
05 / W6				2				2
06 / W1				1				1
06 / W2				2				2
06 / W3		2				3		
06 / W5	2				2			
06 / W6	2				1			
01 / W1	1				1			
01 / W2	2				2			
01 / W3				2				2
01 / W4				2				2
01 / W6		2				2		
02 / W1			2				1	
02 / W2		3				3		
02 / W3	2				2			
02 / W4	2				2			
02 / W5				1				1
02 / W6				1				2
03 / W1				3				3
03 / W2				1				1
03 / W5	2				1			
03 / W6	3				3			
04 / W1	2				1			
04 / W2	2				1			
04 / W3				2				2
04 / W4				2				2
04 / W5		2				1		
04 / W6			3				3	
05 / W1		1				1		
05 / W3	1				1			
05 / W5				2				2
05 / W6				2				2
06 / W1				1				1
06 / W2				2				2
06 / W3		2				3		
06 / W5	2				2			
06 / W6	2				2			
01 / W1	1				1			
01 / W2	2				2			
01 / W3				1				2

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W4				1				2
01 / W6		1				1		
02 / W1			1				1	
02 / W2		2				2		
02 / W3	3				2			
02 / W4	3				2			
02 / W5				1				1
02 / W6				2				2
03 / W1				3				3
03 / W2				1				1
03 / W5	2				1			
03 / W6	3				3			
04 / W1	1				1			
04 / W2	2				2			
04 / W3				2				2
04 / W4				2				2
04 / W5		2				2		
04 / W6			2				2	
05 / W1		1				1		
05 / W3	2				2			
05 / W5				2				1
05 / W6				2				2
06 / W1				2				1
06 / W2				2				2
06 / W3		2				2		
06 / W5	2				2			
06 / W6	2				1			
Mittelwert	1.97	1.80	2.17	1.83	1.67	1.80	1.83	1.83
Stabw.	0.64	0.56	0.75	0.61	0.65	0.77	0.75	0.56

Tab.26: Dicke des neuen Epithels in mm: 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	0.042					
07 / W3			0.049			
07 / W5						0.06
07 / W6					0.032	
08 / W1	0.029					
08 / W2						0.032
08 / W3		0.038				
08 / W4				0.076		
08 / W5					0.042	
08 / W6			0.054			
09 / W1						0.052
09 / W2					0.041	
09 / W3				0.043		
09 / W4	0.067					
09 / W5			0.061			
09 / W6		0.037				
10 / W1					0.025	
10 / W2			0.033			
10 / W3	0.048					
10 / W4						0.022
10 / W5		0.061				
10 / W6				0.038		
11 / W1			0.07			
11 / W2		0.099				
11 / W4					0.044	
11 / W5				0.055		
11 / W6	0.028					
12 / W1		0.086				
12 / W2				0.072		
12 / W3					0.031	
12 / W4			0.052			
12 / W5	0.06					
12 / W6						0.055
13 / W1				0.059		
13 / W2	0.039					
13 / W3			0.041			
13 / W4		0.037				
13 / W5						0.047
13 / W6					0.042	
14 / W1					0.036	
14 / W3		0.035				
14 / W4			0.06			
14 / W5	0.017					
14 / W6				0.067		
Mittelwert	0.041	0.056	0.053	0.059	0.037	0.045
Stabw.	0.017	0.027	0.012	0.014	0.007	0.015

Tab.27: Dicke des neuen Bindegewebes im Vergleich zur gesunden Haut in %:

28-Tage- Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	90.23					
07 / W3			73.97			
07 / W5						76.73
07 / W6					81.05	
08 / W1	82.63					
08 / W2						55.1
08 / W3		74.69				
08 / W4				99.75		
08 / W5					95.7	
08 / W6			99.76			
09 / W1						72.32
09 / W2					73.99	
09 / W3				76.49		
09 / W4	77.61					
09 / W5			83.32			
09 / W6		65.04				
10 / W1					51.45	
10 / W2			65.5			
10 / W3	57.71					
10 / W4						89.7
10 / W5		34.9				
10 / W6				67.45		
11 / W1			85.31			
11 / W2		53.74				
11 / W4					98.48	
11 / W5				72.48		
11 / W6	81.29					
12 / W1		79.4				
12 / W2				76.73		
12 / W3					77.77	
12 / W4			89.4			
12 / W5	89.97					
12 / W6						92.97
13 / W1				54.35		
13 / W2	85.45					
13 / W3			76.3			
13 / W4		72.6				
13 / W5						97.55
13 / W6					82.29	
14 / W1					69.9	
14 / W3		58.97				
14 / W4			90.95			
14 / W5	90.61					
14 / W6				92.89		
Mittelwert	81.94	62.76	83.06	77.16	78.83	80.73
Stabw.	10.87	15.24	10.84	15.25	14.84	15.85

Tab.28: Menge an neuem Bindegewebe, *oben* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	2					
07 / W3			1			
07 / W5						2
07 / W6					2	
08 / W1	2					
08 / W2						2
08 / W3		1				
08 / W4				1		
08 / W5					2	
08 / W6			1			
09 / W1						2
09 / W2					2	
09 / W3				2		
09 / W4	3					
09 / W5			2			
09 / W6		2				
10 / W1					2	
10 / W2			2			
10 / W3	2					
10 / W4						2
10 / W5		2				
10 / W6				1		
11 / W1			1			
11 / W2		2				
11 / W4					2	
11 / W5				2		
11 / W6	2					
12 / W1		1				
12 / W2				3		
12 / W3					2	
12 / W4			1			
12 / W5	2					
12 / W6						1
13 / W1				2		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		2				
13 / W5						2
13 / W6					1	
14 / W1					2	
14 / W3		2				
14 / W4			2			
14 / W5	2					
14 / W6				2		
Mittelwert	2.13	1.71	1.50	1.86	1.88	1.83
Stabw.	0.35	0.49	0.53	0.69	0.35	0.41

Tab.29: Menge an neuem Bindegewebe, *unten* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	2					
07 / W3			1			
07 / W5						1
07 / W6					2	
08 / W1	3					
08 / W2						2
08 / W3		1				
08 / W4				1		
08 / W5					3	
08 / W6			1			
09 / W1						2
09 / W2					3	
09 / W3				1		
09 / W4	3					
09 / W5			1			
09 / W6		2				
10 / W1					2	
10 / W2			2			
10 / W3	2					
10 / W4						2
10 / W5		3				
10 / W6				1		
11 / W1			1			
11 / W2		2				
11 / W4					2	
11 / W5				2		
11 / W6	3					
12 / W1		2				
12 / W2				1		
12 / W3					3	
12 / W4			1			
12 / W5	1					
12 / W6						2
13 / W1				2		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		2				
13 / W5						2
13 / W6					2	
14 / W1					2	
14 / W3		1				
14 / W4			3			
14 / W5	1					
14 / W6				2		
Mittelwert	2.13	1.86	1.50	1.43	2.38	1.83
Stabw.	0.83	0.69	0.76	0.53	0.52	0.41

Tab.30: Menge an neuem Bindegewebe, *links* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	3					
07 / W3			2			
07 / W5						2
07 / W6					2	
08 / W1	3					
08 / W2						2
08 / W3		1				
08 / W4				2		
08 / W5					2	
08 / W6			1			
09 / W1						2
09 / W2					3	
09 / W3				2		
09 / W4	3					
09 / W5			2			
09 / W6		2				
10 / W1					3	
10 / W2			2			
10 / W3	2					
10 / W4						2
10 / W5		3				
10 / W6				1		
11 / W1			1			
11 / W2		2				
11 / W4					2	
11 / W5				2		
11 / W6	2					
12 / W1		2				
12 / W2				2		
12 / W3					3	
12 / W4			2			
12 / W5	2					
12 / W6						2
13 / W1				2		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		2				
13 / W5						2
13 / W6					2	
14 / W1					2	
14 / W3		2				
14 / W4			3			
14 / W5	2					
14 / W6				2		
Mittelwert	2.38	2.00	1.88	1.86	2.38	2.00
Stabw.	0.52	0.58	0.64	0.38	0.52	0.00

Tab.31: Menge an neuem Bindegewebe, *rechts* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	3					
07 / W3			2			
07 / W5						2
07 / W6					2	
08 / W1	2					
08 / W2						2
08 / W3		2				
08 / W4				1		
08 / W5					2	
08 / W6			1			
09 / W1						1
09 / W2					2	
09 / W3				2		
09 / W4	3					
09 / W5			3			
09 / W6		2				
10 / W1					2	
10 / W2			2			
10 / W3	2					
10 / W4						2
10 / W5		2				
10 / W6				1		
11 / W1			1			
11 / W2		2				
11 / W4					3	
11 / W5				2		
11 / W6	2					
12 / W1		2				
12 / W2				3		
12 / W3					3	
12 / W4			2			
12 / W5	2					
12 / W6						2
13 / W1				2		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		3				
13 / W5						2
13 / W6					2	
14 / W1					2	
14 / W3		2				
14 / W4			3			
14 / W5	2					
14 / W6				2		
Mittelwert	2.25	2.14	2.00	1.86	2.25	1.83
Stabw.	0.46	0.38	0.76	0.69	0.46	0.41

Tab.32: Qualität an neuem Bindegewebe, *oben* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	3					
07 / W3			2			
07 / W5						3
07 / W6					3	
08 / W1	2					
08 / W2						2
08 / W3		2				
08 / W4				2		
08 / W5					2	
08 / W6			1			
09 / W1						2
09 / W2					3	
09 / W3				2		
09 / W4	3					
09 / W5			2			
09 / W6		2				
10 / W1					3	
10 / W2			2			
10 / W3	2					
10 / W4						3
10 / W5		2				
10 / W6				2		
11 / W1			1			
11 / W2		2				
11 / W4					2	
11 / W5				2		
11 / W6	2					
12 / W1		2				
12 / W2				3		
12 / W3					3	
12 / W4			1			
12 / W5	2					
12 / W6						2
13 / W1				2		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		3				
13 / W5						2
13 / W6					2	
14 / W1					2	
14 / W3		2				
14 / W4			3			
14 / W5	2					
14 / W6				2		
Mittelwert	2.25	2.14	1.75	2.14	2.50	2.33
Stabw.	0.46	0.38	0.71	0.38	0.53	0.52

Tab.33: Qualität an neuem Bindegewebe, *unten* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	2					
07 / W3			1			
07 / W5						1
07 / W6					2	
08 / W1	2					
08 / W2						2
08 / W3		1				
08 / W4				2		
08 / W5					2	
08 / W6			2			
09 / W1						2
09 / W2					3	
09 / W3				2		
09 / W4	3					
09 / W5			2			
09 / W6		2				
10 / W1					3	
10 / W2			2			
10 / W3	2					
10 / W4						2
10 / W5		2				
10 / W6				2		
11 / W1			1			
11 / W2		2				
11 / W4					3	
11 / W5				3		
11 / W6	3					
12 / W1		2				
12 / W2				2		
12 / W3					3	
12 / W4			2			
12 / W5	1					
12 / W6						2
13 / W1				3		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		3				
13 / W5						2
13 / W6					2	
14 / W1					2	
14 / W3		2				
14 / W4			3			
14 / W5	2					
14 / W6				2		
Mittelwert	2.13	2.00	1.88	2.29	2.50	1.83
Stabw.	0.64	0.58	0.64	0.49	0.53	0.41

Tab.34: Qualität an neuem Bindegewebe, *links* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	3					
07 / W3			1			
07 / W5						2
07 / W6					2	
08 / W1	3					
08 / W2						2
08 / W3		2				
08 / W4				2		
08 / W5					2	
08 / W6			1			
09 / W1						2
09 / W2					3	
09 / W3				2		
09 / W4	3					
09 / W5			2			
09 / W6		2				
10 / W1					3	
10 / W2			3			
10 / W3	2					
10 / W4						2
10 / W5		2				
10 / W6				2		
11 / W1			2			
11 / W2		3				
11 / W4					3	
11 / W5				2		
11 / W6	3					
12 / W1		3				
12 / W2				3		
12 / W3					3	
12 / W4			2			
12 / W5	2					
12 / W6						2
13 / W1				3		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		3				
13 / W5						3
13 / W6					2	
14 / W1					2	
14 / W3		2				
14 / W4			3			
14 / W5	2					
14 / W6				2		
Mittelwert	2.50	2.43	2.00	2.29	2.50	2.17
Stabw.	0.53	0.53	0.76	0.49	0.53	0.41

Tab.35: Qualität an neuem Bindegewebe, *rechts* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	3					
07 / W3			1			
07 / W5						2
07 / W6					2	
08 / W1	3					
08 / W2						2
08 / W3		2				
08 / W4				2		
08 / W5					2	
08 / W6			2			
09 / W1						2
09 / W2					3	
09 / W3				2		
09 / W4	3					
09 / W5			3			
09 / W6		3				
10 / W1					3	
10 / W2			2			
10 / W3	2					
10 / W4						2
10 / W5		2				
10 / W6				2		
11 / W1			1			
11 / W2		3				
11 / W4					3	
11 / W5				3		
11 / W6	3					
12 / W1		3				
12 / W2				3		
12 / W3					3	
12 / W4			2			
12 / W5	2					
12 / W6						3
13 / W1				2		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		3				
13 / W5						3
13 / W6					2	
14 / W1					3	
14 / W3		2				
14 / W4			3			
14 / W5	2					
14 / W6				3		
Mittelwert	2.50	2.57	2.00	2.43	2.63	2.33
Stabw.	0.53	0.53	0.76	0.53	0.52	0.52

Tab.36: Menge an neuem Bindegewebe, *Insgesamt- oben, unten, links und rechts*
(Score): 28-Tage-Gruppe

Kontrolle	QS1	QS2	QS1&2	Betadine	Chlorhexidin	
2	1	1	1	2	2	
2	2	1	2	2	2	
3	2	2	1	2	2	
2	2	2	2	2	2	
2	1	1	3	2	1	
2	2	1	2	2	2	
2	2	2	2	1	1	
2	1	2	1	2	2	
2	2	1	1	2	2	
3	3	1	1	3	2	
3	2	1	2	3	2	
2	2	2	1	2	2	
3	2	1	2	2	2	
1	1	1	2	3	2	
2	1	2	2	2	2	
1	2	3	2	2	2	
3	3	2	1	2	2	
3	2	1	2	2	2	
3	2	2	2	3	2	
2	2	2	2	3	2	
2	2	1	2	2	1	
2	2	2	1	3	2	
2	2	2	2	2	2	
2	2	3	1	2	2	
3	2	2	2	2		
2	2	1	3	2		
3	3	3	2	2		
2	2	2	2	2		
2		1		3		
2		2		3		
2		2		2		
2		3		2		
2.22	1.93	1.72	1.75	2.22	1.88	Mittelwert
0.55	0.54	0.68	0.59	0.49	0.34	Stabw.

Tab.37: Qualität an neuem Bindegewebe, *Insgesamt- oben, unten, links und rechts*
(Score): 28-Tage-Gruppe

Kontrolle	QS1	QS2	QS1&2	Betadine	Chlorhexidin	
3	2	2	2	3	3	
2	2	1	2	2	2	
3	2	2	2	3	2	
2	2	2	2	3	3	
2	2	1	3	2	2	
2	3	1	2	3	2	
2	2	2	2	2	1	
2	1	3	2	2	2	
2	2	1	2	2	2	
2	2	2	2	2	2	
3	2	2	3	3	2	
2	2	2	2	3	2	
3	3	1	3	3	2	
1	2	2	2	3	2	
2	2	2	2	2	2	
2	2	3	2	2	2	
3	2	1	2	2	2	
3	3	1	2	2	3	
3	3	2	3	3	2	
2	3	3	3	3	2	
3	2	2	2	3	2	
2	2	2	2	3	2	
2	3	2	2	2	3	
2	2	3	2	2	3	
3	3	1	3	2		
3	3	2	3	2		
3	3	3	2	3		
2	2	2	3	3		
3		1		3		
2		2		3		
2		2		2		
2		3		3		
2.34	2.29	1.91	2.29	2.53	2.17	Mittelwert
0.55	0.53	0.69	0.46	0.51	0.48	Stabw.

Immunhistologische AuswertungTab.38: TGF- β 3 (Score): 3-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
15 / W1				1		
15 / W2	1					
15 / W4		2				
15 / W5						2
15 / W6					1	
16 / W1	3					
16 / W2						3
16 / W3		1				
16 / W4				3		
16 / W5					2	
16 / W6			3			
17 / W1						3
17 / W2					2	
17 / W3				3		
17 / W4	3					
17 / W5			2			
17 / W6		3				
18 / W1					2	
18 / W2			2			
18 / W3	2					
18 / W4						2
18 / W5		2				
18 / W6				3		
19 / W1			2			
19 / W2		2				
19 / W3						1
19 / W4					2	
19 / W5				2		
19 / W6	1					
20 / W1		2				
20 / W2				3		
20 / W3					2	
20 / W4			2			
20 / W5	1					
20 / W6						2
21 / W2	1					
21 / W3			2			
21 / W4		2				
21 / W5						2
21 / W6					2	
22 / W1					2	
22 / W2						3
22 / W3		3				
22 / W4			3			
22 / W5	2					
22 / W6				1		
Mittelwert	1.75	2.13	2.29	2.29	1.88	2.25
Stabw.	0.89	0.64	0.49	0.95	0.35	0.71

Tab.39: TGF- β 3, *Mitte Granulationsgewebe* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	1			
01 / W2	1			
01 / W3				2
01 / W4				2
01 / W6		1		
02 / W1			3	
02 / W2		2		
02 / W3	1			
02 / W4	1			
02 / W5				1
02 / W6				1
03 / W1				3
03 / W2				1
03 / W5	2			
03 / W6	1			
04 / W1	1			
04 / W2	1			
04 / W3				2
04 / W4				3
04 / W5		2		
04 / W6			1	
05 / W1		2		
05 / W3	2			
05 / W5				3
05 / W6				2
06 / W1				2
06 / W2				3
06 / W3		2		
06 / W5	2			
06 / W6	2			
Mittelwert	1.36	1.80	2.00	2.08
Stabw.	0.50	0.45	1.41	0.79

Tab.40: TGF- β 3, *Epithel links und rechts* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	2				1			
01 / W2	1				1			
01 / W3				3				3
01 / W4				3				2
01 / W6		-				1		
02 / W1			3				3	
02 / W2		2				2		
02 / W3	-				2			
02 / W4	3				-			
02 / W5				1				1
02 / W6				1				1
03 / W1				2				3
03 / W2				1				-
03 / W5	3				3			
03 / W6	3				3			
04 / W1	-				1			
04 / W2	2				-			
04 / W3				3				3
04 / W4				3				3
04 / W5		-				2		
04 / W6			3				3	
05 / W1		3				3		
05 / W3	1				2			
05 / W5				3				3
05 / W6				3				2
06 / W1				3				3
06 / W2				3				-
06 / W3		3				3		
06 / W5	3				3			
06 / W6	2				2			
Mittelwert	2.22	2.67	3.00	2.42	2.00	2.20	3.00	2.40
Stabw.	0.83	0.58	0.00	0.90	0.87	0.84	0.00	0.84

Tab.41: TGF- β 3 (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	1					
07 / W3			1			
07 / W5						1
07 / W6					1	
08 / W1	1					
08 / W2						1
08 / W3		2				
08 / W4				1		
08 / W5					1	
08 / W6			2			
09 / W1						1
09 / W2					1	
09 / W3				1		
09 / W4	1					
09 / W5			1			
09 / W6		2				
10 / W1					1	
10 / W2			1			
10 / W3	1					
10 / W4						1
10 / W5		1				
10 / W6				1		
11 / W1			2			
11 / W2		3				
11 / W4					2	
11 / W5				2		
11 / W6	1					
12 / W1		2				
12 / W2				2		
12 / W3					1	
12 / W4			2			
12 / W5	1					
12 / W6						1
13 / W1				1		
13 / W2	1					
13 / W3			2			
13 / W4		1				
13 / W5						2
13 / W6					1	
14 / W1					1	
14 / W3		1				
14 / W4			1			
14 / W5	1					
14 / W6				1		
Mittelwert	1.00	1.71	1.50	1.29	1.13	1.17
Stabw.	0.00	0.76	0.53	0.49	0.35	0.41

Tab.42: Faktor 8, Gefässanzahl im *Granulationsgewebe oben und unten* (Score): 7-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2
01 / W1	2				1			
01 / W2	1				2			
01 / W3				2				2
01 / W4				3				2
01 / W6		3				3		
02 / W1			2				2	
02 / W2		1				1		
02 / W3	2				2			
02 / W4	1				1			
02 / W5				2				2
02 / W6				2				3
03 / W1				3				3
03 / W2				2				2
03 / W5	2				1			
03 / W6	3				1			
04 / W1	2				1			
04 / W2	2				1			
04 / W3				2				2
04 / W4				3				1
04 / W5		1				3		
04 / W6			2				2	
05 / W1		2				2		
05 / W3	2				2			
05 / W5				3				3
05 / W6				2				3
06 / W1				1				2
06 / W2				2				2
06 / W3		1				2		
06 / W5	3				1			
06 / W6	2				1			
Mittelwert	2.00	1.60	2.00	2.25	1.27	2.20	2.00	2.25
Stabw.	0.63	0.89	0.00	0.62	0.47	0.84	0.00	0.62

Tab.43: Faktor 8, Gefäßmenge im *Granulationsgewebe oben* (Score): 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	2					
07 / W3			2			
07 / W5						2
07 / W6					2	
08 / W1	1					
08 / W2						2
08 / W3		2				
08 / W4				2		
08 / W5					1	
08 / W6			2			
09 / W1						3
09 / W2					2	
09 / W3				2		
09 / W4	2					
09 / W5			3			
09 / W6		2				
10 / W1					3	
10 / W2			3			
10 / W3	2					
10 / W4						1
10 / W5		2				
10 / W6				3		
11 / W1			2			
11 / W2		3				
11 / W4					2	
11 / W5				3		
11 / W6	1					
12 / W1		1				
12 / W2				3		
12 / W3					2	
12 / W4			1			
12 / W5	2					
12 / W6						1
13 / W1				2		
13 / W2	2					
13 / W3			2			
13 / W4		2				
13 / W5						3
13 / W6					2	
14 / W1					1	
14 / W3		2				
14 / W4			2			
14 / W5	3					
14 / W6				2		
Mittelwert	1.88	2.00	2.13	2.43	1.88	2.00
Stabw.	0.64	0.58	0.64	0.53	0.64	0.89

Tab.44: Faktor 8, Gefässmenge im *Granulationsgewebe unten (Score)*: 28-Tage-Gruppe

Ratte / Wunde	Kontrolle	QS 1	QS 2	QS 1&2	Betadine	Chlorhexidin
07 / W2	1					
07 / W3			1			
07 / W5						1
07 / W6					1	
08 / W1	1					
08 / W2						2
08 / W3		1				
08 / W4				2		
08 / W5					1	
08 / W6			2			
09 / W1						1
09 / W2					2	
09 / W3				1		
09 / W4	2					
09 / W5			1			
09 / W6		2				
10 / W1					2	
10 / W2			1			
10 / W3	1					
10 / W4						1
10 / W5		2				
10 / W6				2		
11 / W1			2			
11 / W2		2				
11 / W4					1	
11 / W5				2		
11 / W6	1					
12 / W1		1				
12 / W2				1		
12 / W3					1	
12 / W4			1			
12 / W5	1					
12 / W6						1
13 / W1				2		
13 / W2	1					
13 / W3			1			
13 / W4		1				
13 / W5						1
13 / W6					1	
14 / W1					1	
14 / W3		2				
14 / W4			2			
14 / W5	1					
14 / W6				2		
Mittelwert	1.13	1.57	1.38	1.71	1.25	1.17
Stabw.	0.35	0.53	0.52	0.49	0.46	0.41

9 Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bei **Frau Prof. Brigitte von Rechenberg** für die Überlassung des Themas, sowie für die Freiheiten und das Vertrauen bei der Durchführung des Projektes bedanken. Vielen Dank für die menschliche und fachliche Unterstützung und die stets motivierenden Worte.

Mein besonderer Dank gilt meiner Betreuerin **Dr. Silke Mark**, die in fachlichen und persönlichen Angelegenheiten immer ein offenes Ohr für mich hatte, auf die ich mich stets verlassen konnte und von der ich viel gelernt habe. Danke für die Hilfe, das Gutzureden und eine schöne Zeit.

Meiner Betreuerin **Dr. Katja Nuss** danke ich herzlich für die Planung des Projekts, die professionellen und reibungslosen Abläufe der Operations- und Evaluationstage und die aufgeschlossene Art bei der Unterstützung sämtlicher Arbeiten, sowie für die schnelle Korrektur und die Hilfe dabei.

Bei **Herrn Prof. Dr. Anton Fürst** möchte ich mich für die interessierte und offene Aufnahme der MSRU bedanken.

Für die Übernahme des Korreferats bedanke ich mich sehr herzlich bei **Prof. Dr. Hans Geyer**.

Ausserdem danke ich **Herrn Urs Bühler** und **Frau Dr. Karin Fantelli** für die ausgesprochen angenehme Zusammenarbeit und das bestärkende Lob.

Bei **Dr. Sabine Koch** bedanke ich mich für die tolle Einführung und die lieben Gespräche. Für den offenen Empfang und die Hilfe im Labor bedanke ich mich bei der „**Bone and Stem Cell Research Group**“ sowie der „**Spine Research Group**“. Vor allem danke ich herzlichst **Ali Mirsaidi** für die umfangreiche Unterstützung und die vielen Tipps sowie seine aufmunternde Art, die mich durch die Zellkulturarbeit begleitet haben.

Flora Nicholls danke ich für die Durchführung der Anästhesien und die wahnsinnig nette und liebevolle Betreuung der Ratten rund um die Operationen.

Ich danke auch **Dr. Dagmar Schäfer** und dem Institut für Labortierkunde für die Hilfe im Umgang und bei der Versorgung der Ratten.

Ich danke **Käthi Kämpf** für jegliche Hilfe, ihre beruhigende Art in allen Bereichen und für den Zusammenhalt des Teams.

Vielen Dank auch an **Kati Zlinsky**, **Sabina Wunderlin** und **Dr. Monika Hilbe** für die Anfertigung der histologischen Präparate und die Hilfestellung bei der Auswertung.

Rainer Egle und **Gaby Schmid** danke ich für die Unterstützung bei allen technischen und administrativen Angelegenheiten.

Für die Kollegialität und schöne gemeinsame Zeit bedanke ich mich bei dem Team der MSRU: **Dr. Flurina Clement, Philipp Conze, Tetyda Dobak, Dr. Sabrina Ernst, Nathalie Fouché, Julia Freudenhammer, Lea Gegner, Oliver Gehrig, Dr. Agnieszka Karol, Käthi Kämpf, Dr. Karina Klein, Dr. Sabine Koch, Dr. Peter Kronen, Dr. Nico Lagerpusch, Henriette Lapczyna, Dr. Maren Lesser, Silvana Resegatti, Ingmar Meth, Isabel Mosch, Lena Müller, Dr. Katja Nuss, Svende Pfundstein, Henning Richter, Anke Schulze-Grotthoff, Dr. Michèle Sidler, Dr. Christine Sievert, Ansgar Solecki** und **Dr. Stefan Stübinger**.

Danke **Isa, Teti, Henning** für das „Freischwimmen“ vom Arbeitsstress.

Danke **Michèle** für die vielen tollen und lustigen Stunden, deine Freundschaft und dein Interesse.

Karina danke ich für die grosse Hilfsbereitschaft in jeglichen Angelegenheiten und ihre auflockernde Art.

Danke **Stefan** für den wochenlangen Fotoeinsatz auf Kosten von Schlaf und für die viele, viele Nervennahrung.

Meinem Onkel **Dr. med. dent. Ulrich Baumheuer** möchte ich für die Übernahme des Lektorats danken.

Ein grosses Dankeschön auch an meine **ganze Familie** und meine **Freunde aus Giessen**. Vor allem danke ich auch meinen Grosseltern **Inge** und **Joachim Baumheuer** für ihre Unterstützung und meiner Grosstante **Gerda Oldenburg**, bei der ich Energie tanken durfte.

Meinem Freund **Dr. Nico Lagerpusch** danke ich für seine Kritik, seine Liebe und für unendlich viel Nachsicht, Rücksicht, Ruhe und Geduld.

Meinem Bruder **Maximilian Pusch** spreche ich einen grossen Dank aus, denn er hat meinen bisherigen Lebensweg bedeutend unterstützt.

Und der grösste, kaum ausdrückbare Dank gilt von ganzem Herzen meinen Eltern **Elke** und **Holger Pusch**, die mich mit unendlich viel Liebe und Zuspruch unterstützt haben, immer für mich da sind und mir alles ermöglichen!

Lebenslauf

Name, Vornamen	Pusch, Francis Katharina
Geburtsdatum	09.10.1985
Geburtsort	Münster, Deutschland
Nationalität	Deutsch
07/1991-06/1995	Gezelin-Grundschule Leverkusen, Deutschland
07/1995-06/1998	Freiherr-vom-Stein Gymnasium Leverkusen, Deutschland
08/1998-06/2001	Deutsche Schule Barcelona, Spanien
07/2001-06/2004	Albert-Schweizer Gymnasium Hürth, Deutschland
26.06.2004	Abschluss Allgemeine Hochschulreife
10/2004-02/2010	Studium der Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität in Giessen, Deutschland
16.02.2010	Erhalt der Approbation
05/2010-11/2011	Anfertigung der Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg am Departement für Pferde, Musculoskeletal Research Unit (MSRU) der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
Seit 11/2011	Angestellte Tierärztin in Bessy's Kleintierklinik bei Dres. med. vet. Imelda und Rico Vannini in Regensdorf-Watt, Zürich, Schweiz
